

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA



**“INDUCCIÓN DE MUTACIONES EN CENTENO (*Secale cereale*
Linneo) EMPLEANDO RADIACIÓN GAMMA”**

Presentado por:

LUIS ENRIQUE SORALUZ CUBAS

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRONOMO**

Lima – Perú

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA

**“INDUCCIÓN DE MUTACIONES EN CENTENO (*Secale cereale*
Linneo) EMPLEANDO RADIACIÓN GAMMA”**

Presentado por:

LUIS ENRIQUE SORALUZ CUBAS

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRONOMO**

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Félix Camarena Mayta
PRESIDENTE

Dra. Luz Gómez Pando
PATROCINADORA

Dr. Jorge Jiménez Dávalos
MIEMBRO

Ing. Mg. Sc. Enrique Aguilar Castellanos
MIEMBRO

Lima - Perú
2015

*A mis padres, a quienes les debo la
vida y todos los méritos logrados.*

AGRADECIMIENTOS

A mi patrocinadora, la Dra. Luz Gómez Pando, por el apoyo incondicional a través del desarrollo de este proyecto.

Al programa de cereales y todos sus colaboradores, en especial a la ingeniera Katherine Argumedo y la señorita Ruty.

Al Comité de Molinos de la Sociedad Nacional de Industrias por el apoyo en la investigación de centeno un cereal panificable y con adaptación a zonas marginales de la Sierra Peruana.

Al Organismo Internacional de Energía Atómica y al Instituto Peruano de Energía Nuclear por el apoyo en la formación de profesionales con experiencia en el mejoramiento genético de cereales empleando Inducción de Mutaciones a través del Proyecto PER 0025.

INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION LITERARIA	3
2.1 Clasificación del centeno	3
2.2 El centeno	3
2.3 Origen, historia y distribución geográfica	4
2.4 Descripción botánica	6
2.5 Aspectos generales del crecimiento y desarrollo del centeno	8
2.6 Producción del centeno en el mundo y en el Perú	11
2.7 Generalidades sobre mutaciones	12
2.8 Tipos de mutaciones	13
2.9 Agentes mutagénicos	16
2.10 Radiación ionizante	16
2.11 Efecto de las radiaciones sobre el material vegetal	18
2.12 Utilización de la mutagénesis inducida en la mejora	18
2.13 Inducción de mutaciones en el mejoramiento genético de cultivos	21
2.14 Inducción de mutaciones en el mejoramiento genético del centeno	23
III. MATERIALES Y METODOS	25
3.1 Ubicación del experimento	25
3.2 Materiales, equipos e insumos	25
3.3 Metodología	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
V. CONCLUSIONES	52
VI. RECOMENDACIONES	53
VII. BIBLIOGRAFIA	54
VIII. ANEXOS	61

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro N° 01. Fases fenológicas de los cereales.	10
Cuadro N° 02. Producción (TM.) de centeno cultivado en el Perú. Periodo 1995 – 2012	12
Cuadro N° 03. Aneuploides más comunes. (Robles, 1986).	15
Cuadro N° 04. Euploides más comunes. (Robles, 1986).	15
Cuadro N° 05. Agentes mutagénicos físicos y químicos empleados en la inducción de mutaciones en plantas. (Fita et al., 2008).	16
Cuadro N° 06. Cuadrados medios del ANVA de germinación, supervivencia, altura de plántula y longitud de raíz en bandejas, de la generación M ₁ de centeno (<i>Secale cereale</i> L.) variedad Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 0, 100, 150, 250 y 300 Gray.	39
Cuadro N° 07. Valores medios y Prueba de Tukey de germinación (%), supervivencia (%), altura de plántula (cm) y longitud de raíz (cm) en bandejas, de la generación M ₁ de centeno (<i>Secale cereale</i> L.) variedad Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 0, 100, 150, 250 y 300 Gray.	39
Cuadro N° 08. Tipos y frecuencia de mutaciones clorofílicas observadas en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100Gy.	40
Cuadro N° 09. Tipos y frecuencia de mutaciones clorofílicas observadas en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 150Gy.	41
Cuadro N° 10. Números y frecuencia de “mutantes candidatos” precoces observados en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sonko irradiado con rayos gamma a las dosis de 100 y 150Gy.	43
Cuadro N° 11. Número y frecuencia de “mutantes candidatos” con espigas largas observadas en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100 y 150Gy.	44

Cuadro N° 12. Número y frecuencia de “mutantes candidatos” morfológicos con distinta longitud de aristas observados en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100 y 150Gy.	45
Cuadro N° 13. Número y frecuencia de otros “mutantes candidatos” morfológicos observados en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100Gy.	46
Cuadro N° 14. Número y frecuencia de otros “mutantes candidatos” morfológicos observados en la población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 150Gy.	46
Cuadro N° 15. Número y estabilidad de mutaciones morfológicas observadas en la población M ₃ para la dosis de 100Gy.	48
Cuadro N° 16. Número y estabilidad de mutaciones morfológicas observadas en la población M ₃ provenientes de la generación M ₂ para la dosis de 150Gy.	49
Cuadro N° 17. Número y estabilidad de mutantes precoces observados en la generación M ₃ provenientes de la población M ₂ .	49
Cuadro N° 18. Tipos y frecuencias de mutaciones observadas en la Generación M ₃ y M ₂ de centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiada con rayos gamma a la dosis de 100 Gray.	50
Cuadro N° 19. Tipos y frecuencias de mutaciones observadas en la Generación M ₃ y M ₂ de centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiada con rayos gamma a la dosis de 150 Gray.	50
Cuadro N° 20. Número y frecuencia de espigas erectas observadas en la población M ₃ de <i>Secale cereale</i> L. var. Sorom.	51

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 01. Posible origen evolucionario del centeno cultivado (<i>Secale cereale</i> L.) desde <i>S. montanum</i> .	5
Figura 02. Tipos de mutaciones génicas.	14
Figura N° 03. Metodología empleada por el Programa de Cereales Menores y Granos Nativos de la UNALM para la obtención de nuevas variedades de cereales.	27
Figura N° 04. Manejo de la población para las Generaciones M ₂ y M ₃ .	29
Figura N° 05. Cuadro de Barras comparativo de las frecuencias de las mutaciones clorofílicas observadas en una población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiada a dosis de 100 y 150Gy.	41
Figura N° 06. Cuadro de Barras comparativo de las frecuencias de otras “mutaciones candidatas” en morfología de espigas en una población M ₂ de Centeno (<i>Secale cereale</i> L.) var. Sorom irradiada a dosis de 100 y 150Gy.	47

RESUMEN

Semillas de centeno de la variedad “Sorom” se sometieron a dosis de 100Gy, 150Gy, 200Gy y 300Gy de radiación Gamma y fueron evaluadas durante tres generaciones (M₁, M₂ y M₃). En la generación M₁ se observó una reducción significativa en germinación, supervivencia, longitud de parte aérea y longitud de raíz en las dosis altas (200Gy y 300Gy) a comparación de las dosis bajas (100Gy y 150Gy) y el testigo. Para la generación M₂, se obtuvieron mutaciones clorofílicas y “mutaciones candidatas” morfológicas y fisiológicas en ambas dosis evaluadas (100Gy y 150Gy). En la generación M₃, se transfirieron casi todas las mutaciones morfológicas y la única mutación fisiológica (precocidad) observadas en la generación anterior. Las dosis 100Gy y 150Gy produjeron diferentes frecuencias de mutaciones para cada carácter observado.

Palabras claves: Radiación gamma, centeno, sorom, mutaciones

I. INTRODUCCION

La pequeña agricultura en la sierra se desarrolla en base a pocos cultivos que son los alimentos básicos para la supervivencia de los agricultores y sus familias. Los cambios climáticos adversos, que se van haciendo más evidentes, harán más difícil la provisión de alimentos de estos agricultores. Una forma de enfrentar estos problemas es diversificando los cultivos y buscando entre ellos a los más rústicos. Los cereales forman parte de esta gama de cultivos con gran tolerancia a estreses de clima y a producir en suelos de baja fertilidad, pedregosos y con baja disponibilidad de agua; con poca inversión por parte de estos agricultores de escasos recursos económicos. Una opción en la diversificación de los cultivos es el centeno (*Secale cereale* L).

El cultivo del centeno generalmente se realiza en tierras de baja fertilidad, suelos ácidos y zonas frías, ya que este cultivo resiste mejor estas condiciones que el trigo e incluso la cebada. Sin embargo, con un poco de fertilización puede generar buenos rendimientos y producir más alimentos y hacer más rentable el cultivo en zonas marginales, por ello, el centeno sería una buena alternativa de producción para los agricultores de las zonas más altas y alejadas de la sierra peruana.

El centeno es el segundo cereal en importancia para la fabricación de pan, aunque es el primero en los países escandinavos y algunos otros de Europa Oriental. En promedio el centeno tiene una composición de 7.5 – 9.5% de proteínas; 1.0% de grasas; 75.0% de carbohidratos y 2.3% de fibra. Es rico en ácido fólico, en sales minerales como hierro, sodio, potasio, calcio, magnesio y vitaminas B y E. Además tiene gluten de menor calidad que el trigo y permite elaborar un pan oscuro y compacto, de sabor muy agradable para algunos paladares. Estas características permitirían que el centeno llegue a ser un sucedáneo del trigo que es escaso y de menor rendimiento potencial.

El centeno fue introducido al Perú por los españoles hace más de 500 años y su cultivo se mantiene en forma muy limitada en algunas zonas de la sierra, como en el departamento de Ancash. El cultivo no alcanzó la importancia de la cebada y del trigo por lo que no se realizaron trabajos de mejoramiento genético y agronómico en este cultivo, manteniéndose pocas variedades antiguas de centeno. Estas variedades son muy altas, de ciclo de vida muy largo y de bajo potencial de rendimiento, sin embargo tolerantes a condiciones marginales. Por lo tanto se requiere obtener genotipos de centeno de menor altura, más precoces y con mejor potencial de rendimiento manteniendo los caracteres que permiten su adaptación a condiciones marginales. Se pueden emplear diversos métodos de mejoramiento entre ellos la inducción de mutaciones.

OBJETIVOS

1. Identificación del espectro y la frecuencia de mutaciones en una población M_2 desarrollada mediante la aplicación de rayos gamma.
2. Determinación de la estabilidad de las mutaciones en una población M_3 .
3. Identificación de nuevas mutaciones candidatas en una población M_3 .

II. REVISION LITERARIA

2.1 Clasificación del Centeno

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Subclase: *Commelinidae*

Orden: *Poales*

Familia: *Poaceae*

Subfamilia: *Pooideae*

Tribu: *Triticeae*

Género: *Secale*

Especie: *Secale cereale* L.

(<http://www.usda.gov/>)

2.2 El Centeno

El centeno pertenece a la familia Poaceae. Originario del Cercano Oriente, probablemente Irán y cultivado en regiones frías y templadas con propósito forrajero o de grano.

Según De la Vega (1969), el centeno fue, durante largo tiempo, uno de los principales cereales para la alimentación humana. Aún hoy se utiliza para la elaboración de un pan oscuro que se endurece menos rápido que el pan de trigo. Es por ello que es muy apreciado en los países montañosos del norte de Europa, donde los inviernos son crudos.

Langer (1991) comenta que a pesar de que al centeno ha perdido importancia frente a otros cereales en los últimos tiempos, aún es sembrado en gran escala en países de Europa Oriental

y en algunas regiones de la ex URSS, así como que aún existe una pequeña pero persistente demanda del cereal en otros países de temperaturas frías.

El centeno obtiene mejores rendimientos que el trigo y la cebada en donde estos dos cereales no. El centeno ofrece una resistencia intrínseca al frío y al invierno, superior al trigo e incluso a la cebada. Esta superioridad se acentúa aún más en los suelos ácidos, arenosos, poco profundos y de difícil enmienda. (De la Vega, 1969).

2.3 Origen, historia y distribución geográfica

El origen del Centeno parece no estar aún demasiado claro, aunque lo más extendido es pensar que proviene de Asia Menor.

La domesticación del centeno como cultivo ocurrió alrededor de 3000 AC., considerablemente después que el trigo y la cebada. Las especies de plantas voluntarias parecen haberse originado en la parte oriental de Turquía y noroccidental de Irán y Armenia. Los climas en estas áreas son suficientemente fríos como para que los cultivos de trigo y cebada fuesen fácilmente contaminados o enmalezados por centeno, el cual se adapta mejor a estas condiciones. (Langer, 1991). En principio el centeno aparece como una mala hierba (*Secale ancestrale* o *Secale montanum*) que crece junto a las variedades de cereales domésticos como el trigo y la cebada, a los que fue invadiendo progresivamente sobre todo en las zonas de climas fríos y suelos pobres. Es en estas zonas donde va apoderándose de los predios y en los que se va conformando mediante la selección de plantas cuyas espigas tienen raquis no quebradizos. (López, 1991).

El centro de origen del centeno parece ser el suroeste de Asia. Desde ahí, fue probablemente distribuido hacia Rusia y Escandinavia y desde ahí hacia Polonia y Alemania. Luego, se extendió gradualmente a través de casi toda Europa. (Schlegel, 2013). Sin embargo, el centeno pudo haber llegado a Europa a través de Turquía y a través de la Península Balcánica (Bushuk, 1976).

El centeno fue introducido hacia China a través del Medio Oriente. Luego el centeno llegó a Japón. El centeno fue llevado desde Europa hacia los asentamientos establecidos en el

continente americano durante los siglos XVI y XVII. Tanto en USA como en China, el centeno fue sembrado principalmente como forraje. (Schlegel, 2013).

Langer (1991), señala que la especie *Secale cereale* L. pudo haber evolucionado desde *Secale montanum*, ya sea directamente o con otras especies como intermediarias, y eventualmente fue seleccionada por ser de tipo anual y por producir una mayor cantidad de granos que las del resto de especies.

En la Figura 01 se presenta un esquema que explica la evolución del centeno desde las formas primitivas a las domesticadas según Schlegel, 2013.

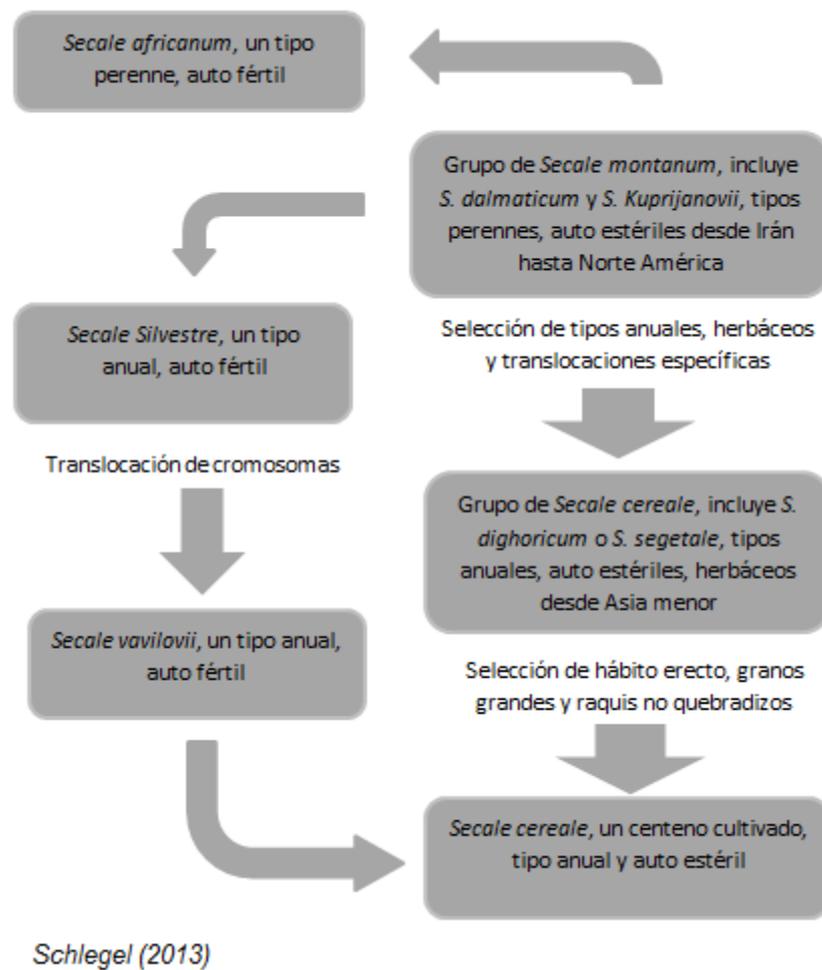


Figura N° 01. Posible origen evolucionario del centeno cultivado (*Secale cereale* L.) desde *S. montanum*.

2.4 Descripción botánica

2.4.1 Sistema radicular

El centeno tiene un sistema radicular fibroso sin raíz principal definida y consiste en tres o cuatro raíces embrionarias (primarias), que se forman en el momento de la germinación de la semilla, y raíces fasciculadas (secundarias) que se forman subterráneamente de los nudos del tallo en la zona de los nudos de los macollos y su profundidad llega a 90 – 230 cm; siendo el cereal que más profundiza. (Schlegel, 2013). Otros autores como Russel (1977) y Kramer et al. (2003) han realizado estudios significativos en el sistema radicular del centeno.

Russel (1977), informa la presencia de 12,5 millones de pelos radiculares; los cuales medidos longitudinalmente alcanzan una longitud total de hasta 80 km, mientras que en el trigo fue de hasta 50 kilómetros. La mayor parte de las raíces (75% -90%) se encuentra en la capa de 30-35 cm superiores del suelo.

2.4.2 Tallo

El tallo del centeno, como en las gramíneas, es hueco y consiste de tres a siete internudos separados por nudos. La habilidad del centeno de tolerar al acame, como otros cereales, está relacionada a la altura de la planta, la fuerza del tallo, el tamaño del sistema radicular y el peso de la espiga. (Schlegel, 2013).

Rosa et al. (2005) indica una altura de 120 a 150 cm. Según Schlegel (2013), el cultivo de centeno tiene una altura que varía entre 80 – 180 cm de altura. La altura de planta es una característica compleja bajo el control de muchos genes y efectos ambientales. Sin embargo, existen genes mayores que pueden disminuir la altura de la planta.

Se ha demostrado que la síntesis de ácido giberélico (GA) está relacionada con la expresión de altura de la planta; así, niveles altos de GA están asociados con plantas más altas, mientras que niveles reducidos de GA se asocian con enanismo. En base a esta respuesta, se han identificado mutantes enanos naturales o inducidos en Centeno y se han clasificado en dos grupos: (1) GA-sensible y (2) los genotipos GA-insensibles. (Schlegel, 2013).

2.4.3 Hojas

Las hojas nacen de cada nudo, y la planta joven se asemeja al trigo. Están formadas de lámina, vaina, aurícula y lígula. Estas dos últimas estructuras se localizan entre la lámina y la vaina y sirven para diferenciar los cereales. Las aurículas son pequeñas, estrechas y sin pelos, y se marchitan después de un tiempo. (Langer, 1991). La aurícula del centeno es muy corta y la lígula es corta y redondeada.

2.4.4 Espiga

La inflorescencia es una espiga de unos 20 a 30 cm de largo, y la espiguilla es multiflora (Rosa *et al*, 2005).

De acuerdo a Schlegel (2013), cada tallo reproductivo forma una espiga. Esta inflorescencia es compuesta y de tipo imperfecta (sin la espiguilla superior). La espiga terminal mide en promedio 10-15 cm de largo y es más delgada y nudosa que la del trigo. En promedio de muchas variedades, la longitud del raquis es de 9.8 cm y el número de espiguillas por espiga es 32.4, para esto se consideraron más de 50,000 plantas. El pedúnculo del centeno está cubierto con vellos cortos y finos debajo del collar. La pubescencia es más gruesa en la parte superior del pedúnculo y decrece hacia abajo por 2-7.5 cm.

Un gen dominante controla la vellosidad del pedúnculo. Este está localizado en la parte distal del brazo largo del cromosoma 5R. (Schlegel *et al*, 1993).

El raquis es la espina dorsal de la espiga, que lleva las espiguillas laterales. El entrenudo del raquis es ligeramente cóncava en el lado las espiguillas. Las raquillas del centeno no son ramosas, pero hay algunas variedades de centeno con raquillas hereditariamente ramosas. (Schlegel, 2013).

2.4.5 Espiguillas

Las espiguillas son solitarias y sésiles en cada nudo del raquis y dispuestas en zigzag, es decir, en cada nudo, hay una espiguilla con dos flores o, más raramente, con tres flores (Dobrovolskaya *et al*, 2009; Schlegel, 2013). Las espiguillas descansan sobre el raquis por

lo que las glumas vacías y lemas tienen un exterior (abaxial) e interior (adaxial) margen con respecto a los raquis. El raquis termina en una espiguilla apical, que normalmente es rudimentaria y estéril. Cada espiguilla está provista de un par de glumas puntiagudas bastante estrechas (Langer, 1991). Cada espiguilla por lo general consiste de sólo dos flósculos fértiles, con flósculos supernumerarios vestigial o ausente (Langer, 1991; Schlegel, 2013). Los flósculos fértiles tienen un lemma que termina en una arista fuerte, y una palea un poco en forma de barco, más pequeña (Langer, 1991). Al igual que en otros cereales de grano pequeño, una hoja modificada sustituye la espiguilla basal. (Schlegel, 2013).

2.4.6 Fruto - Semilla

El fruto del centeno es una cariósipide oblonga u oval aplanada a los lados. La cariósipide de centeno es un tipo simple de fruto seco; uno que es monocarpelado (formado a partir de un único carpelo) e indehisciente (no se abre a la madurez), y se asemeja a un aquenio, excepto que en una cariósipide el pericarpio se fusiona con la capa fina de la semilla. El grano del centeno es más largo y más delgado que el del trigo. La cariósipide puede ser blanca, amarilla, azul claro, violeta y marrón, o tiene diferentes tonos de verde. Es relativamente grande. El peso de 1000 semillas es en promedio 40-50 g, por lo tanto algo más bajo que en el trigo (45-55 g). Semillas más grandes contribuyen a rendimientos más altos. (Schlegel, 2013).

2.5 Aspectos generales del crecimiento y desarrollo del centeno

El ciclo de vida de un centeno de invierno dura en promedio 290 días. En climas templados, el periodo vegetativo dura de 120-150 días (su periodo vegetativo otoñal dura 45-50 días, mientras que los periodos vegetativos primaverales y de verano duran 75-100 días) sin embargo esto puede variar según condiciones ambientales y variedades del cultivo. (Schlegel, 2013).

El ciclo del centeno es comparable al del trigo, aunque más corto, es decir que, en condiciones equivalentes, la siega del centeno tiene lugar antes que la del trigo. (De la vega, 1969).

2.5.1 Fases fenológicas del centeno

La fenología de los cereales, entre ellos el centeno, es descrita en diferentes escalas, las cuales han sido postuladas por diferentes autores. Entre ellas figuran la escala de Feekes-Large, Kellar-Baggiolini, y la más utilizada a nivel mundial, la Escala de Zadoks-Chang-Konzak. Esta escala se basa en las características morfológicas de la planta.

Para el año 1974, la escala más conocida y usada era la escala diseñada por Feekes en 1941. En esta escala, las principales etapas morfológicas, fáciles de reconocer, son numeradas desde 1 a 11 en un orden ontogenético, desde la emergencia de la semilla hasta la madurez del grano. Algunas etapas de crecimiento cruciales fueron subdivididas y estas subdivisiones fueron indicadas por números en una o dos columnas adicionales (Feekes, 1941).

La escala de Feekes se acondiciona muy bien a los cereales que son sembrados en el Noroeste de Europa, como trigo, cebada, centeno, avena y también al arroz que se siembra en otras partes del mundo. Sin embargo, la relativa importancia de una etapa de crecimiento puede variar de una zona a otra, y de un cultivo a otro; además, una escala diseñada para el Noroeste de Europa no necesariamente es la que mejor se ajusta a otras áreas. La escala de cuatro dígitos de Feekes es ineficiente para el procesamiento de la información y para almacenamiento y recuperación digital (Loegering, 1968). Frente a la necesidad de una escala que pueda ser utilizada en distintas áreas y en los diferentes cereales sembrados a nivel internacional, Zadoks, Chang y Konzak liberan su escala decimal en 1974.

En el cuadro N° 01 se muestra la escala de las fases fenológicas de los cereales, de manera resumida, propuesta por Zadoks-Chang-Zadoks (1974).

Cuadro N° 01. Fases fenológicas de los cereales.

Etapa Principal	Descripción	Sub-Fase
0	Germinación	0.0-0.9
1	Producción de hojas	1.0-1.9
2	Producción de macollos	2.0-2.9
3	Producción de nudos (encañado)	3.0-3.9
4	Vaina engrosada	4.0-4.9
5	Espigado	5.0-5.9
6	Antesis	6.0-6.9
7	Estado lechoso del grano	7.0-7.9
8	Estado pastoso del grano	8.0-8.9
9	Madurez	9.0-9.9

Según J.C. Zadoks, T.T. Chang y C.F. Konzak (1974)

La etapa 0 designa la germinación, incluido el periodo desde semilla seca hasta la aparición del coleoptilo. Esta etapa recibe bastante atención, ya que una subdivisión de esta fase puede ser útil en el control de malezas, radiobiología, patología de la semilla y trabajo de laboratorio en las semillas.

La etapa 1 abarca desde la aparición de la primera hoja hasta la última. Esta etapa es importante en el estudio de resistencia de enfermedades dentro de invernaderos, y ha sido utilizada extensivamente en estudios de control de malezas y epidemiología. Así mismo, esta etapa es importante ya que durante la aparición de la segunda y tercera hoja (códigos 2.2 – 2.3) se da lo que se denomina “Cambio de surco”, lo cual es el paso de surco simple (formación de hojas) a surco doble (formación de espiguillas), y el riego durante este momento es crucial para la obtención de mejores rendimientos. No se puede definir el fin de esta etapa como el macollaje (etapa 2), ya que en el código 2.4 ó 2.5 ocurre la producción del primer macollo (código 2.1), debido a que en este momento se activan las yemas ubicadas en las axilas de las hojas que originan los macollos.

Para la etapa de encañado (3.0), los decimales de cada código son definidos según el número de nudos visibles, y estos son considerados cuando cada entrenudo excede 2 cm. de longitud.

En el caso del trigo y el centeno, la meiosis en las flores coincide con las etapas iniciales de vaina engrosada (código 4.1 para trigo y 4.3 en el caso del centeno). Para la cebada, el trigo

y el centeno, la meiosis empieza en el medio de la espiga y continúa hacia arriba y abajo. Sin embargo, este proceso está bastante influenciado por el medio ambiente, y es por ello que no debe de tomarse muy estrictamente las etapas para este caso.

La etapa de espigado (5.0) es el proceso de emergencia de las espigas, una vez que las flores han terminado de formarse. Se considera como fecha del espigado cuando el 50% de las espigas del campo han emergido.

La etapa de antesis (6.0) para el caso de trigo y centeno ocurre usualmente después del espigado. Así como la meiosis, se da primero en el medio de la espiga y continúa hacia arriba y debajo de esta. En el caso de algunos cultivares de cebada, las pocas flores o ninguna se abren y se puede omitir la etapa de antesis (códigos 6.0-6.9). Sin embargo para híbridos F1 de este mismo cultivo, eso puede variar.

En distinción al trigo y la cebada, el estigma del centeno sigue siendo receptivo durante algún tiempo después de haber sido expuesta, y por lo tanto se produce la polinización cruzada. (Langer, 1991).

Las etapas de estado lechoso (7.0), estado pastoso (8.0) y maduración (9.0) del grano, se refieren básicamente a la cantidad de humedad presente en la semilla y su evolución se define a cómo esta va perdiendo esa humedad. La desecación del grano está determinada básicamente a factores externos.

2.6 Producción del centeno en el Mundo y en el Perú

A nivel mundial, en el año 2010 se reporta a nivel mundial la siembra de 5'334,844 has con una producción de 12'736,640 TM y un rendimiento de 2,319.4 kg/ha. Siendo el país con más área cultivada Polonia, con 1'395,600 has. El mayor rendimiento reportado es en Uzbekistan con 6,578.9 kg/ha. (FAOSTAT 2010).

En el Cuadro N° 02 se presenta la serie histórica de la producción centeno en el Perú desde el año 1995 al año 2012. Se puede apreciar que la producción de este cereal ha ido en aumento. Se puede ver que para el final de la década de los 90 hubo un alza en la producción

del cultivo y se mantuvo algo estable durante la primera década del nuevo milenio, y luego hubo un alza significativa en la producción para la segunda década del nuevo milenio.

Cuadro N° 02. Producción (TM.) de centeno cultivado en el Perú. Periodo 1995 – 2012

AÑO	Producción (TM.)
1995	58.00
1996	68.00
1997	80.00
1998	90.00
1999	106.00
2000	96.00
2001	88.00
2002	67.00
2003	88.00
2004	69.00
2005	86.00
2006	157.10
2007	81.00
2008	131.00
2009	145.60
2010	144.00
2011	128.60
2012	80.80

Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego

En el Perú para el año 2010 se informa la siembra de 125 has., con un rendimiento de 992 kg/ha, y una producción de 144 TM. (FAOSTAT 2010).

2.7 Generalidades sobre Mutaciones

El término mutación fue asignado por Duchesne en 1776, y aceptado por Hugo de Vries en 1886; siendo este último investigador quien enfatizó que las mutaciones son la base fundamental de la evolución de las especies.

Anteriormente se decía que una mutación es cualquier cambio heredable en el material hereditario que no se puede explicar mediante segregación o recombinación. A partir del

conocimiento del ADN y la propuesta de la doble hélice se modificó esta definición: Una mutación es cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN. (www.ucm.es).

Las mutaciones son cambios heredables que representan las bases genéticas de la variación, así como la materia prima para que tengan lugar los procesos de selección y evolución. (Watkin, 1965).

2.8 Tipos de mutaciones

Los tipos de mutaciones se pueden agrupar en dos grupos:

a. Por su origen

Las mutaciones se clasifican según su origen en espontáneas o inducidas. Una mutación espontánea es aquella que ocurre en la naturaleza, mientras que una mutación inducida es la que resulta de la acción de un agente mutagénico o mutágeno aplicado artificialmente. La mutación espontánea es el mecanismo por el cual los nuevos caracteres génicos surgen en la naturaleza. No hay diferencia clara entre mutaciones espontáneas y las inducidas. Lo que parece ser una mutación espontánea podría ser una mutación inducida, ya que todas las plantas en la naturaleza están sujetas a bajas dosis de radiación natural. Asimismo, podría darse el caso de que después de tratar el material vegetal con un mutágeno, una mutación identificada resulte ser una mutación espontánea, y no el resultado del tratamiento con el mutágeno (Gardner, 1979; Poehlman & Sleper, 2003).

Las tasas de mutaciones inducidas son muy distintas a las espontáneas. En estas últimas oscila entre 10^{-6} y 10^{-8} en microorganismos y entre 10^{-4} y 10^{-6} en plantas y animales; mientras que con tratamientos de mutaciones inducidas se puede conseguir una tasa tan alta como se quisiera, pero existe el riesgo de causar tantas mutaciones de que el organismo llegue a no sobrevivir. (Cubero, 2003).

b. Por la cantidad de ADN

Elliot, (1964), clasifica las mutaciones en tres tipos: aquellas en las que ocurre cambio en la estructura química del gen (mutación genética); las que implican alteraciones cromosómicas

(translocaciones, inversiones, duplicaciones); y las que implican cambios en el número de cromosomas.

- **Mutación génica**

Fita *et al.* (2008), menciona a la mutación génica como cualquier cambio heredable producido dentro de los límites de un gen. Como resultado aparecen nuevos estadios alternativos de un mismo gen, o lo que es lo mismo, nuevas variantes alélicas distintas a las preexistentes.

Tipos de mutación génica:

Sustitución: Una sustitución es una mutación que intercambia una base por otra. Las sustituciones pueden ser Transiciones (cambio de una purina por otra purina, o una pirimidina por otra pirimidina) o transversiones (cambio de una purina por una pirimidina o viceversa).

Inserción: Es una mutación en la que una nueva base es insertada en la cadena del ADN.

Supresión: Las supresiones son mutaciones en la que una sección de ADN se pierde o es eliminada.

(<http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/home.php>).

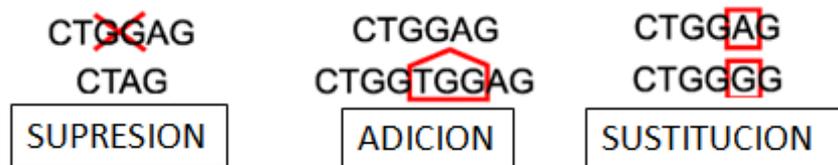


Figura 02. Tipos de mutaciones génicas.

(<http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/home.php>).

- **Mutaciones cromosómicas**

Las mutaciones cromosómicas (o aberraciones cromosómicas) se presentan en modalidades como: inversiones o traslocaciones homocigóticas o heterocigóticas, centrales o terminales; duplicaciones parciales o totales; fragmentaciones de uno o de los cromosomas homólogos; y deficiencias de uno o más pares de genes. Algunas mutaciones cromosómicas darán lugar a un cambio en el orden lineal de los genes, lo cual causa cambios en el fenotipo, porque se altera la secuencia de las reacciones enzimáticas de los genes o la interacción de éstos respecto al lugar para la expresión

de un carácter o respecto al tiempo en que se debe desarrollar ese carácter. (Robles, 1986).

- **Cambios de ploidía**

Los cambios de ploidía son cambios en el número de cromosomas, estos cambios se pueden clasificar en dos: aneuploides y euploides. Los aneuploides se caracterizan por tener cromosomas de más (hiperploide) o cromosomas de menos (hipoploide) en células o en individuos diploides.

Cuadro N° 03. Aneuploides más comunes. (Robles, 1986).

ANEUPLOIDE	FORMULA	CROMOSOMAS
Normal	$2n$	(ABCD)
Monosómico	$2n - 1$	(ABCD)
Trisómico	$2n + 1$	(ABCD) (ABC)
		(ABCD) (D)
Tetrasómico	$2n + 2$	(ABCD) (D) (D)
		(ABCD)
Doble Trisómico	$2n + 1 + 1$	(ABCD) (A) (D)
Nulisómico	$2n - 2$	(ABCD) (AB)

Los euploides son células o individuos que contienen múltiplos de un genomio completo de cromosomas característicos de una especie.

Cuadro N° 04. Euploides más comunes. (Robles, 1986).

EUPLOIDE	FORMULA	CROMOSOMAS
Monoploide	n	(ABCD)
Diploide	$2n$	(ABCD) (ABCD)
Triploide	$3n$	(ABCD) (ABCD) (ABCD)
Tetraploide	$4n$	(ABCD) (ABCD) (ABCD) (ABCD)
Autotetraploide	$4n$	(ABCD) (ABCD) (ABCD) (ABCD)
Alotetraploide	$4n$	(ABCD) (ABCD) (A'B'C'D') (A'B'C'D')

2.9 Agentes mutagénicos

El mejoramiento genético de plantas o fitotecnia exige variación genética de las características útiles para mejorar los cultivos y cuándo no se logra a través de las hibridaciones, se puede emplear agentes mutagénicos, como la radiación y algunos productos químicos, para inducir mutaciones y generar variaciones genéticas de los cuales pueden seleccionarse los mutantes deseados. El tratamiento con agente mutagénicos altera los genes o causa cambios estructurales en los cromosomas (Konzak et al., 1965; Novak & Brunner, 1992).

Cuadro N° 05. Agentes mutagénicos físicos y químicos empleados en la inducción de mutaciones en plantas. (Fita et al., 2008).

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

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

2.10 Radiación ionizante

Mickie (1982) menciona que el efecto de la radiación comenzó a ser investigada por Muller en 1927, cuando demostró la primera inducción artificial de mutaciones midiendo el efecto de grandes dosis de Rayos X sobre la tasa de mutaciones letales ligadas al sexo y visibles en *Drosophila* sp. Alrededor de ese tiempo, también se hacían observaciones similares en Cebada.

The International Atomic Energy Agency (1984), informa que la división de la FAO/IAEA tiene a cargo varios programas de radioisótopos con el fin de: producir variedades de plantas alimenticias de elevado rendimiento y con alto contenido proteico; producir variedades resistentes a estreses bióticos y abióticos y así mismo cultivares precoces; combatir o erradicar plagas; determinar la absorción de abonos y la función de los oligoelementos; y evitar las pérdidas de las cosechas durante el almacenamiento.

2.10.1 Radiaciones gamma

Los rayos gamma, que se presentan espontáneamente y que son emitidos por ciertos productos químicos radioactivos, por ejemplo el Cobalto 60 y el radio, son rayos electromagnéticos de onda muy corta. (Watkin, 1965). En general los rayos gamma tienen una longitud de onda más corta y por lo tanto poseen más energía por fotón que los rayos X.

Las principales fuentes de rayos gamma son el cobalto 60 y Cesio-137, que se utilizan en trabajos radiobiológicos. Es importante conocer las propiedades de las fuentes de rayos gamma, para así poder determinar cuál utilizar. La fuente Cesio-137 es utilizada en muchas instalaciones por tener una vida media más larga que el Cobalto 60. Las fuentes de rayos gamma son almacenadas en contenedores de plomo cuando no se utilizan. Cuando el material es irradiado se recomienda que todas las labores que se realizan se operen bajo control remoto.

Los rayos gamma, emitidos por cobalto radiactivo o radioisótopos, causan nuevos daños en células vegetales y suelen utilizarse para irradiar plantas completas o parte de estas, incluyendo el polen (Poehlman & Sleper, 2003).

Para Babaei et al, (2010), los rayos gamma son mutágenos físicos que han demostrado ser útiles para la modificación de nuevas variantes de rasgos que pueden dar lugar a la mejora de los cultivos y se puede utilizar como una herramienta complementaria en fitomejoramiento.

En las radiaciones ionizantes (rayos X y gamma) se utilizan las unidades roentgen (R) y rad (rad). La primera es la unidad de exposición, lo cual quiere decir la cantidad de radiación que produce una unidad electrostática de carga eléctrica por cm³ de aire. Mientras que el rad

(radiation absorbed dose) es la unidad de radiación absorbida: es la radiación que produce una absorción de energía de 10^{-2} Jules/kg de material tratado. Ambas son prácticamente equivalentes, más el rad es la más utilizada ya que es más fácil medir la absorción de energía que la emisión. Las radiaciones ionizantes producen daños directos (roturas físicas en la cadena de ADN) e indirectos a través de lesiones producidos en el medio. (Cubero, 2003).

2.11 Efecto de las radiaciones sobre el material vegetal

Para Watkin (1965), las radiaciones ionizantes pueden afectar a las células bajo formas muy diversas: mediante inhibición de la división celular y de la síntesis del ácido nucleico; por rotura de los cromosomas y cromátidas que son responsables de reordenaciones estructurales que afectan a los cromosomas y en anomalías durante la mitosis y meiosis; y en lo que se admite como intervención principal, al ser responsables de las verdaderas mutaciones génicas.

Las radiaciones pueden producir tres tipos de efectos sobre las células (Swanson, citado por Sanjinez, 2001).

- Efecto fisiológico: es aquel que produce alteración química de ciertas moléculas que afectan el funcionamiento normal de la célula, llegando en ocasiones hasta causar la muerte de estas. Esto tiene repercusión sobre la síntesis de DNA y se puede alterar mucho la mitosis, produciéndose el aglutinamiento de los cromosomas, aunque éstos no se rompan.
- Efecto mutacional: aplicado a la teoría del blanco, se producen mutaciones de punto sin que sean capaces de producir la ruptura del cromosoma.
- Efecto cromosómico: en este tipo de efecto se llega a la ruptura del cromosoma, la cual puede afectar al cromosoma completo, o a una cromátida.

2.12 Utilización de la mutagénesis inducida en la mejora

La mutación natural es la base de la selección natural (evolución), por ello, la mutación inducida debe considerarse un complemento para incrementar la cantidad de variación natural existente, en particular cuando ésta se haya reducido excesivamente por una intensa selección o no se encuentra lo que se desea. (Cubero, 2003).

Toda mejora de plantas descansa en la detección y utilización de las mutaciones que valoran y acrecientan el valor de la expresión de un carácter en la dirección que sea más recomendable para ser objeto de cultivo. (Watkin, 1965).

Uno de los usos más importantes de las mutaciones inducidas y espontáneas identificadas es en el mejoramiento genético de plantas, Para este propósito se debe poner atención en la selección de las variedades parentales. Generalmente, deberán seleccionarse las variedades adaptadas de la localidad de estudio. El desarrollo exitoso de la línea mutante no sólo depende de la mutación beneficiosa, sino de la: adaptabilidad, resistencia, calidad y rendimiento, que pueden estar ya presentes en la combinación genética del material parental. Si el comportamiento agronómico no es satisfactorio pero, el carácter mutado es importante, la línea mutante puede ser empleada como progenitor en cruzas con una variedad bien adaptada y de alto rendimiento. Además de ello la inducción de mutaciones es una herramienta para incrementar la variabilidad de los organismos. Muchas veces la variabilidad causada por éstas no difiere de la causada por mutaciones espontáneas. (OIEA, 1984; OIEA, 1997).

Según Lawrence (1965), la utilidad de las mutaciones obtenidas por radiaciones, o por agentes químicos, en los programas de mejoramiento de plantas, depende de distintos factores que pueden ser divididos en dos grupos:

- Factores que se relacionan con la cantidad de mutaciones útiles producidas: eficiencia del agente mutagénico, eficiencia del uso de la mutación, la forma como se descubre la mutación.
- Factores que están asociados con la naturaleza de la variación inducida.

2.12.1. Empleo de mutaciones puntuales o génicas:

a. En especies autógamias:

1. Usándolas directamente para mejorar variedades.
2. Mediante cruzas realizadas con plantas mutantes:
 - Cruza del mutante con la línea parental.
 - Cruza de diferentes mutantes de diferentes líneas parentales.
 - Cruza del mutante con una línea parental diferente.
 - Cruza de dos variedades que aparentemente llevan el mismo mutante.

b. En especies alógamas: en general, inducir mutantes en especies alógamas ofrece menos perspectivas, particularmente por la dificultad de selección, incorporación y mantenimiento de mutaciones recesivas en cada población y además porque los problemas de mejoramiento de plantas alógamas son más problemas de manejo que de pérdida de variabilidad *per se*. Sin embargo; se han reportado algunos éxitos de trabajos de mejoramiento en plantas alógamas utilizando mutaciones (Donini & Sonnino, 1998).

c. A través de heterosis:

- En líneas endocriadas.
- En inducción de machos estériles (alógamas y autógamias).

d. En plantas de reproducción asexual: las especies que reproducen vegetativamente se encuentran principalmente dentro de dos categorías: primero, aquellas especies que son capaces de reproducirse sexualmente, pero que comercialmente son propagadas vegetativamente; estas especies son altamente heterocigotas y son a menudo aneuploides y poliploides. La segunda categoría está conformada por especies propagadas vegetativamente, denominadas apomícticas. En estas plantas se utilizan las mutaciones génicas para producir pocos cambios en una variedad de interés, en la que se busca solamente un carácter nuevo manteniendo teóricamente todos los anteriores.

2.12.2. Empleo de mutaciones en cromosomas

- Uso de translocaciones, para transferir caracteres a partir de otras especies o géneros.
- Uso de translocaciones, para producir directamente duplicaciones.
- Diplodización y poliploidización.

2.12.3. Uso de agentes mutagénicos para cultivos con problemas especiales

- Uso de radiaciones para producir mutantes haploides.
- Uso de mutagénesis para incrementar la variabilidad.
- Uso de radiaciones para la producción de sexualidad transitoria en especies apomícticas.
- Uso de radiaciones para reducir la incompatibilidad de cruza amplias.
- Uso de la inducción de mutaciones para estudios especiales de los procesos genéticos o fisiológicos, morfológicos y bioquímicos en el cultivo de plantas.

2.13 Inducción de mutaciones en el mejoramiento genético de cultivos

El mejoramiento convencional requiere de siete a diez años de investigación para producir una nueva variedad. El uso de radiación permite la inducción de millones de variaciones genéticas en las que los mejoradores pueden encontrar la característica deseada y realizar cruces. De esta forma puede reducirse a la mitad el tiempo de generación de una nueva variedad. (Lagoda, 2012).

La inducción de mutaciones ha sido usada en el mejoramiento de cultivos mayores como trigo, arroz, cebada, algodón, maní, frijol, los cuales son propagados a través de semilla. La estrategia primaria en el mejoramiento a base de mutaciones ha sido el mejorar las variedades de cultivos adaptadas a la región alterando uno o más caracteres. Estos incluyen tamaño de planta, madurez, resistencia a enfermedades, entre otros. (Maluszynski, 2001).

Desde el establecimiento de la unión FAO/IAEA, más de 1800 cultivares han sido obtenidos ya sea por mutaciones directas o derivados de cruces, y liberados en 50 países alrededor del mundo. (Maluszynski *et al*, 1995).

Irfaq y Nawab (2001), irradiaron 3 cultivares distintos de trigo (Pirsabak-91 (P-91), Khyber-87 (K-87) y Tarnab-78 (T-78)) con cuatro diferentes dosis de rayos gamma (10kR, 20kR, 30kR y 40kR). Todos los cultivares mostraron una reducción significativa en la altura de planta, porcentaje de supervivencia y peso de 1000 granos bajo los tratamientos de las dosis más altas (30kR y 40kR). La germinación de todos los cultivares se vio significativamente retrasada como respuesta a todos los tratamientos, la menor dosis (10kR) incrementó la altura de planta en el caso de Pirsabak-91. Las dosis de 30kR y 40kR también crearon anomalías en las Alturas de las plantas. Se pudo ver que distintos cultivares responden de diferente manera con respecto a ciertos caracteres.

El informe de la IAEA de 1972 reporta que Lapins irradió yemas de frutales caducifolios con radiación gamma de una fuente de Co-60. En manzano (*Malus x domestica*) obtuvo mutantes con menor cantidad de russeting en la piel del fruto, mutantes con menor contenido de clorofila en piel y pulpa del fruto, y mutantes con mayor color rojo en la piel del fruto. En albaricoque (*Prunus armeniaca*), logró obtener un mutante precoz de la variedad Blenheim. Este mutante luego fue liberado como 'Early Blenheim'.

Mutation Breeding Newslettler (2001, 2005) reporta los siguientes avances de trabajo de mejoramientos de plantas utilizando inducción de mutaciones:

Ramesh *et al.*, sometieron a irradiación gamma semillas de cebada en la zona de Meerut (India), donde este cultivo tiene problemas con acame y mal llenado de semilla debido a lluvias tardías. Ellos se proponían encontrar mutantes de porte más bajo, más precoces y de mejor potencial de rendimiento que las variedades existentes. Las dosis con las que trabajaron fueron de 100, 200, 300 y 400 Gy. Como resultado de este trabajo, encontraron un mutante con características deseables a lo que necesitaban: K-169; el cual presente resistencia al acame y un alto contenido de proteína (15.46%).

Shah *et al.*, sometieron semillas de *Brassica napus* L. cv. Tower a irradiación gamma a dosis de 1.0, 1.2 y 1.4 kGy en 1988, en Pakistán. Las semillas tratadas fueron sembradas directamente a campo como generación M₁. En las siguientes generaciones M₂/M₃ se buscaron mutantes con caracteres deseables y se obtuvo un mutante útil: RM-152-2, que fue seleccionado en la generación M₃. La generación M₅ fue examinada en pruebas de rendimiento preliminares durante la campaña 1990-91 en el Instituto Nuclear de Agricultura y Alimento (NIFA por sus siglas en inglés), y la línea mutante RM-152-2 superó significativamente en rendimiento al cultivar comercial 'PR-7', al producir 2 t/ha de grano contra 1.4 t/ha del cultivar comercial. Debido a esto se realizaron más pruebas de esta línea mutante en distintas locaciones comparándola con otros 30 cultivares comerciales bajo condiciones de riego y seco, durante dos años consecutivos 1992-93 y 1993-94. Al final de las pruebas se vio que el mutante RM-152-2 superó significativamente a todos los controles, así como también mostró estabilidad genética en el tiempo y distintas localidades. Así mismo, el mutante mostró precocidad frente a los demás cultivares comerciales y resistencia y tolerancia frente a enfermedades. Debido a estos resultados la línea mutante RM-152-2 fue liberada luego como cultivar comercial bajo el nombre de 'Abasin-95'.

Shamsuzzaman *et al* realizaron un programa de mejoramiento mutagénico con irradiación gamma en semillas de garbanzo en 1989, en Bangladesh. En este país, la producción de este cultivo no es interesante para los agricultores porque las

variedades que se encuentra tienen un largo periodo de maduración, tamaño pequeño de semilla y pobres rendimientos. Es por esto que el país gasta mucho dinero en la importación de garbanzo. Se trataron semillas de dos líneas exóticas: G-97 y G-319. La inducción de mutaciones se realizó con rayos gamma, azida de sodio y la combinación de estos dos. En 1989 se cultivó la generación M₁, de la cual se cosecharon 4,542 plantas individuales y sus semillas llegaron a ser la generación M₂. De esta generación, 87 plantas individuales M₂ fueron seleccionadas, de las cuales sólo 16 llegaron a la generación M₄. Entre estas una línea mutante sobresalió: L-84. Luego se realizaron pruebas de esta línea frente a otros dos mutantes y tres cultivares comerciales en las generaciones M₅, M₆ y M₇ durante 1995-2001. Finalmente se vio que el mutante L-84 tiene maduración temprana, alto rendimiento de grano y tamaño de semilla mediana. Por ello, luego fue liberado como cultivar bajo el nombre de ‘Binasola-3’.

Eroglu et al. (2007) determinaron que a dosis crecientes de rayos gamma (50, 100, 150, 200, 250, 300 Gy) disminuían el índice mitótico en ápices de raíces embrionarias en semillas de *Hordeum vulgare*.

2.14 Inducción de mutaciones en el mejoramiento genético del centeno

Sava•kan y Toker (1991) encontraron que a dosis ascendentes de rayos gamma (50, 100, 150 y 200 Gy) disminuía el tamaño de planta conjuntamente con el índice mitótico en *Secale cereale* L.

Akgün y Tosun (2004) sometieron semillas de *Secale montanum* a diferentes dosis de rayos gamma (0, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 20, 25 y 30 krad) encontrando variaciones en la M₁ tales como reducción del porcentaje de germinación y número de granos por espiga a dosis crecientes de radiación.

El OIEA, en su base de datos (<http://mvgs.iaea.org>), menciona el registro de 4 variedades de centeno (*Secale cereale* L.) mejoradas por inducción de mutaciones:

- Variedad “Hja (6900)”, desarrollada en Finlandia empleando radiación gamma en la variedad “Vjatka”, con una dosis de 100 Gy, lográndose mejorar la resistencia a bajas temperaturas, tallo más corto y fuerte y buena calidad, registrada en 1975.

- Variedad “Donar”, de Alemania. Obtenida a través de la aplicación de agentes mutagénicos químicos ISO-PMS de la variedad parental “Petkuser Winterroggen Slamm”, con 20 a 25 cm. menos alta y con resistencia al acame, registrada en 1981.
- Variedad “HJa (6902)”, desarrollada en Finlandia aplicando rayos gamma y logrando mejor resistencia al acame. Registrada en 1981.
- Variedad “Pollux”, de Alemania. Obtenida con PMS. Se logró mejorar la resistencia al acame y reducir la altura de la planta.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del experimento

La generación M_1 se desarrolló en el Instituto Regional de Desarrollo San Juan de Yanamuclo (IRD-Sierra), Distrito de San Lorenzo, Jauja, Junín.

Las generaciones M_2 y M_3 se desarrollaron en el Campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina ubicado en el distrito de La Molina, provincia de Lima y departamento de Lima, cuya ubicación geográfica es la siguiente:

Latitud sur: 12°05'

Longitud oeste: 76°56'

Altura: 240 msnm.

3.2 Materiales, equipos e insumos

3.2.1 Material vegetal:

Semillas secas de la variedad Sorom (Generación M_0), las cuales fueron sometidas a distintas dosis de irradiación gamma (Generación M_1); semilla de la generación M_2 y semillas de la generación M_3 sembradas durante la fase de estudio de la presente investigación.

La variedad Sorom es un tipo de centeno que se encuentra en la sierra alta del departamento de Ancash. Las características de este material son: plantas altas, en promedio las plantas tienen una altura entre el rango de 166 a 175 cm; las espigas son relativamente cortas con un promedio de 12.47 cm, curvas y con aristas largas. En condiciones de Costa emite el 50% de las espigas de una población a los 80 días después de la siembra (dds).

3.2.2 Materiales de campo

- Libreta y registros de campo
- Insumos como fertilizantes y pesticidas
- Lampas, azadón, rastrillo, hoces
- Cordeles, carteles, bolsas de papel Kraft
- Wincha métrica
- Lápiz y marcadores
- Cámara fotográfica
- Mochila pulverizadora

3.3 Metodología

En la figura N° 03 se muestra la metodología seguida para el desarrollo del material genético en la presente investigación.

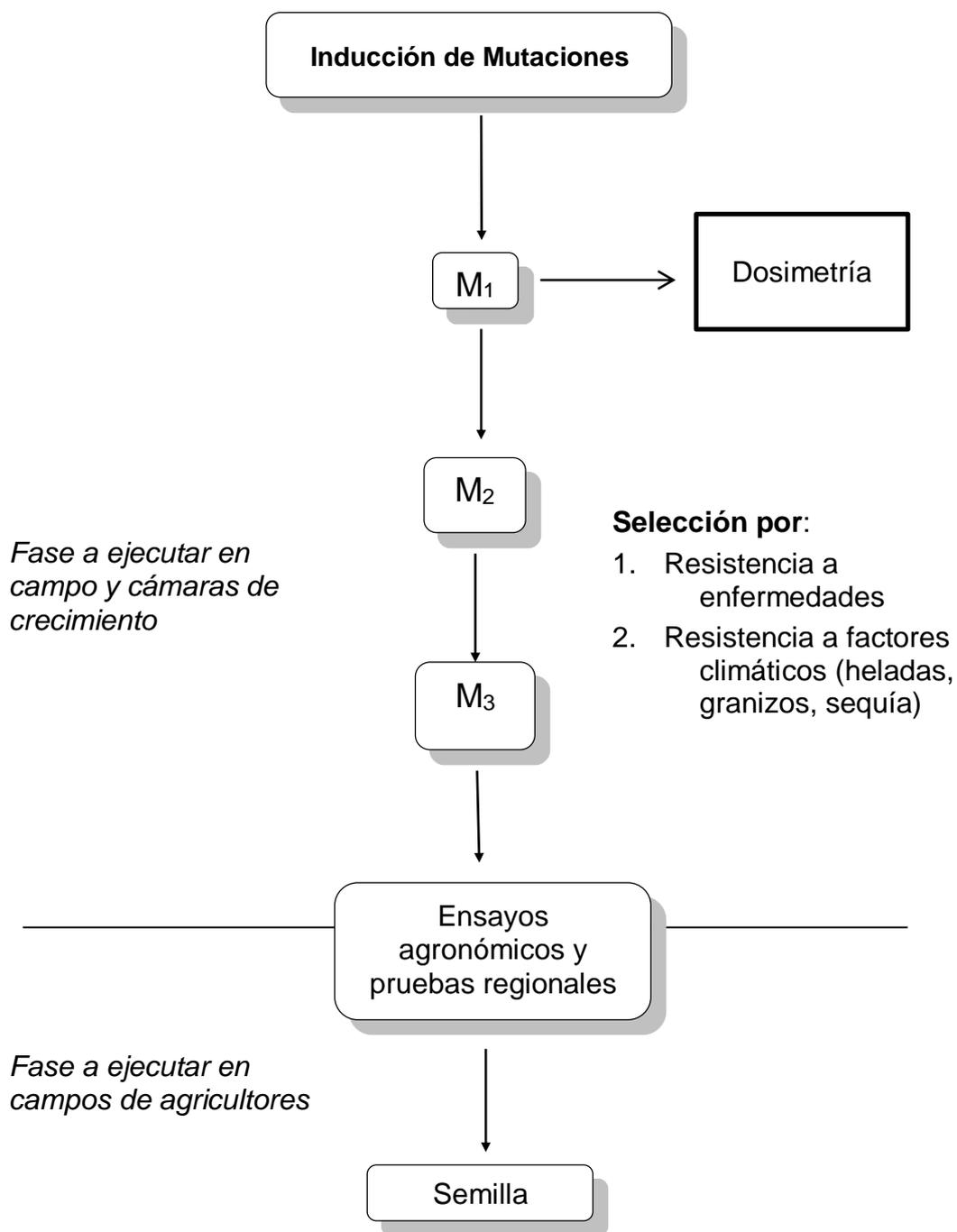


Figura N° 03. Metodología empleada por el Programa de Cereales Menores y Granos Nativos de la UNALM para la obtención de nuevas variedades de cereales.

3.3.1 Generación M₁

Se generaron a partir de semillas de la variedad Sorom mediante la irradiación con rayos gamma en el Instituto Peruano de Energía Nuclear. Se irradiaron 250 g de semillas en las dosis de 0, 100, 150, 250 y 300 Gray.

Este material fue evaluado en laboratorio y campo.

Fase de Laboratorio

Dosimetría:

Se tomaron 300 granos irradiados de cada dosis y del testigo sin irradiar y se sembraron en bandejas en grupos de 100 granos por repetición con el objetivo de evaluar el porcentaje de germinación, supervivencia, longitud de parte aérea y longitud de raíz.

Se analizaron los resultados empleando el diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones.

Fase de campo

Se sembró cada dosis en forma masal en el IRD-Sierra. El cultivo se condujo en condiciones de secano bajo un manejo convencional a lo largo de su desarrollo fenológico, realizando las respectivas labores agronómicas típicas del cultivo de cereales, sin embargo en esta generación el deshierbo se realizó en forma manual. En la fase de maduración de cosecha se cortaron espigas individuales en cada dosis.

3.3.2 Generación M₂ y Generación M₃

Generación M₂

Esta fase de campo se realizó en el campo Guayabo 2 de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), en la campaña 2012-2013.

Se sembraron las espigas individuales cosechadas en la generación M₁. Se sembró una espiga por surco. Cada surco de 1 m de largo y 0.4 m de ancho.

Se cosecharon “Plantas mutantes candidatas por espiga”.

Generación M₃

Se instaló en el campo Guayabo 2 de la UNALM en la campaña 2013-2014. Cada planta-espiga “candidata mutante” cosechada en la Generación M₂ se sembró en parcelas independientes de un surco.

En la Figura 04 se muestra el momento de las labores culturales y evaluaciones realizadas a través del cultivo para las generaciones M₂ y M₃ en sus respectivas campañas.

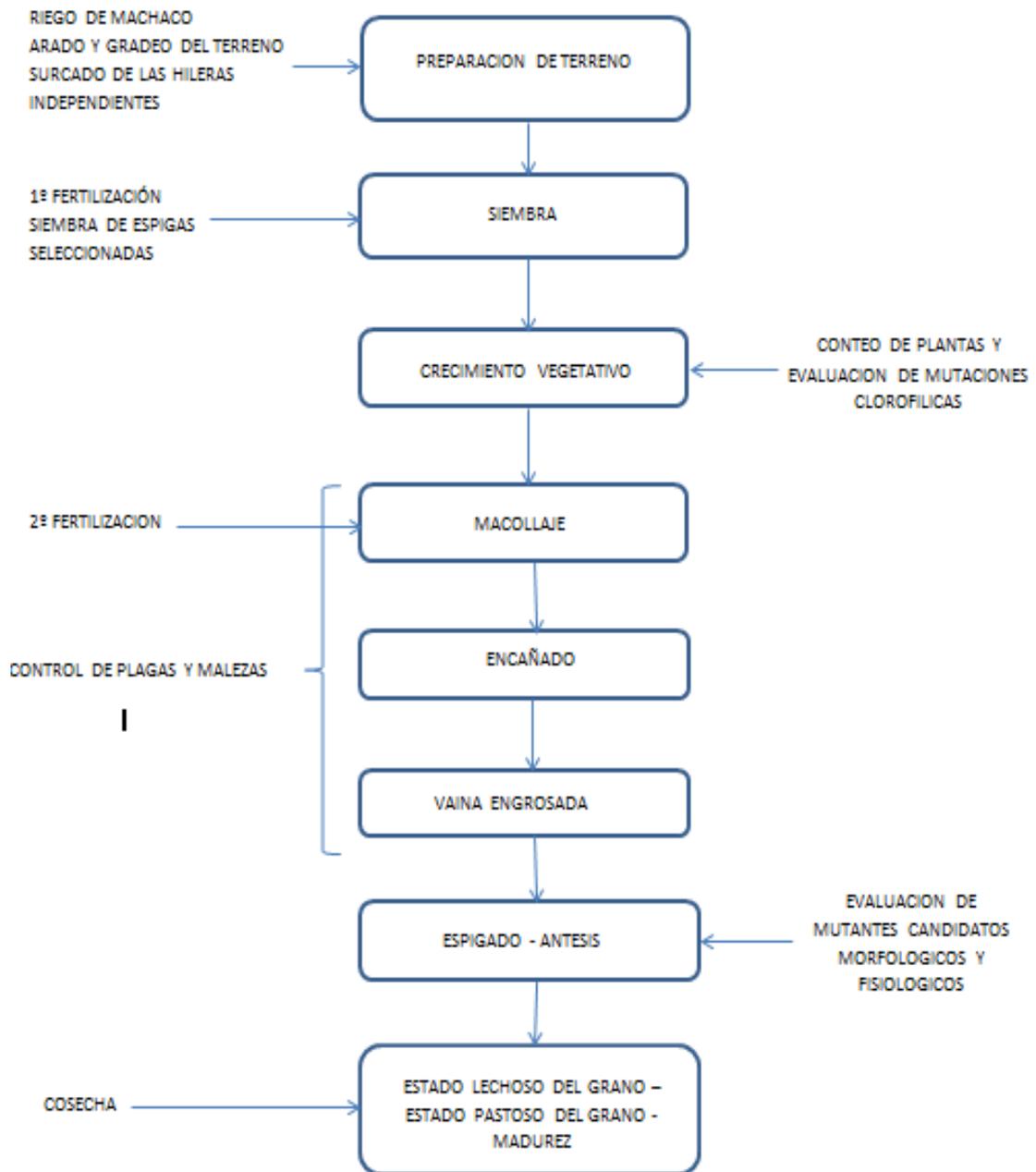


Figura N° 04. Manejo de la población para las Generaciones M₂ y M₃.

3.3.2.1 Labores culturales

a. Preparación del terreno

Se realizó el riego de machaco con el objetivo de hacer germinar semillas de malezas, así también como semillas del cultivo anterior (maíz) que hayan podido quedar en el campo.

Se aradó y gradeó el campo eliminando así las malezas que germinaron con el riego pesado, a los dos días se niveló, se armaron los surcos de un metro de longitud y una profundidad no mayor a cinco centímetros, luego de ello se procedió a armar los canales de riego.

b. Fertilización

Previo a la siembra se realizó una primera fertilización a fondo de surco. Se utilizó una mezcla de 50 kg de úrea con 150 kg de fosfato diamónico que se distribuyeron a lo largo de los surcos de 1 metro. Cuando el cultivo alcanzó la fase de macollamiento, se realizó una segunda fertilización con úrea, utilizándose 50 kilos de úrea.

c. Siembra

Se sembró una espiga-línea mutante/surco. Las semillas se colocaron a chorro continuo encima del fertilizante previamente aplicado, luego se tapó con suelo del surco adyacente cubriendo solamente 2 – 3 cm. por encima de las semillas.

d. Riego

Inmediatamente después de la siembra se realizó un riego para promover la germinación de las semillas. La frecuencia de riego fue semanal y cuidando que las plantas no entren en estrés hídrico durante las fases fisiológicas de diferenciación floral, floración y llenado de semilla. Para el riego, se tuvo en cuenta el estado de la humedad del suelo.

e. Control de malezas

Cuando el cultivo tenía entre 5 a 10 hojas se realizaron aplicaciones del herbicida 2-4 D sol-amina (100 ml/mochila). Cuando el cultivo alcanzó la etapa de encañado hubo una gran incidencia de plantas voluntarias, especialmente de la solanácea

Capuli cimarron, pero que se eliminaron también manualmente utilizándose palas y azadones.

f. Control de plagas y enfermedades

El cultivo no presentó incidencia de enfermedad alguna.

En el caso de plagas, hubo una infestación moderada no uniforme de pulgones (*Rhopalosiphum maidis*). Para su control se aplicó Cipermix a una dosis de 50 ml/mochila. Se utilizó, en esta aplicación, tres mochilas.

Para todas las aplicaciones se utilizó un regulador de pH y en el caso del plaguicida un adherente.

g. Cosecha

La cosecha dependió del grado de madurez de la planta y semilla. Se esperó que las plantas secaran en campo hasta cuando las semillas alcanzaron un porcentaje de humedad del 10%.

Cada generación fue cosechada en forma manual, frotando con la palma de las manos para desprender de las semillas las envolturas florales, y a través de un ventilador estacionario se eliminó impurezas y residuos que pudieran quedar.

3.3.2.2 Evaluaciones

a. Conteo de plantas

Se contó el número de plantas en cada uno de los surcos con el fin de determinar el número total de plantas emergidas en cada tratamiento. Esta evaluación se llevó a cabo a los 10 días después de la siembra.

b. Mutaciones de clorofila o pigmentos

Esta evaluación se realizó empleando la escala propuesta por Gustafsson (1969).

I. Albina	No se forma clorofila ni carotenos.
II. Xantha	Prevalencia de carotenos o ausencia de clorofila.
III. Alboviridis	Diferentes colores en la base y punta de la hoja
a) Alboxantha	Base amarilla, punta blanca. Muy común.
b) Xanthalba	Base blanca o ligeramente coloreada. Punta amarilla o amarillo verdosa. Puede alcanzar madurez.
c) Alboviridis	Base verde, punta blanca.
IV. Viridis	Grupo heterogéneo, característico amarillo verdoso o verde claro.
a) Virescens	Verde claro uniforme que gradualmente cambia a verde oscuro. Generalmente el color adquiere el tono normal. Mutación a menudo viable.
b) Chlorina	Generalmente color amarillo verdoso que puede permanecer durante el ciclo de la planta u oscurecerse. Viable.
c) Lutescens	Los pigmentos verdes originales se destruyen, las hojas se marchitan y se tornan amarillas.
d) Albescens	Igual que c pero más pronunciado. Los colores originales cambian a blanco o blanco amarillo.
V. Tigrina	Destrucción trasversal de los pigmentos. Líneas transversales son generalmente marrones o amarillas, delgadas y comprimidas. Muy características en cebada.
VI. Striata	Líneas longitudinales de color blanco o amarillo.
VII. Maculata	Destrucción de clorofila y/o caroteno en forma de manchas distribuidas sobre las hojas.
VIII. Mutaciones indefinidas	Informe descriptivo de las observaciones efectuadas.
IX. Mutaciones en el Plasma	

Se contabilizó el número de mutantes clorofílicos y tipo de mutantes por hilera.

c. Mutaciones morfológicas o fisiológicas

Esta evaluación se realizó teniendo en cuenta los descriptores. El Concejo Internacional de Recursos Fitogenéticos (CIRF), elaboró una lista de descriptores para facilitar y unificar criterios para la caracterización y evaluación del centeno y triticale (1985).

- Longitud de la espiga
Espigas cortas
Espigas largas
- Longitud de las aristas
Estimada a la madurez en una escala de 1 a 9, donde:
0: mutica (sin aristas)
3: cortas
7: conspicuas o largas
- Se contaron los días a la floración de los mutantes en comparación con los días a la floración del testigo, de ser menor se consideró una planta precoz, y de ser mayor se le consideró un mutante tardío.
- Presencia de pubescencia en el tallo debajo de la espiga
0: ausente
3: débil
5: intermedio
7: fuerte



3 Débil



5 Intermedio



7 Fuerte

- Longitud de la espiga
Espigas cortas
Espigas largas

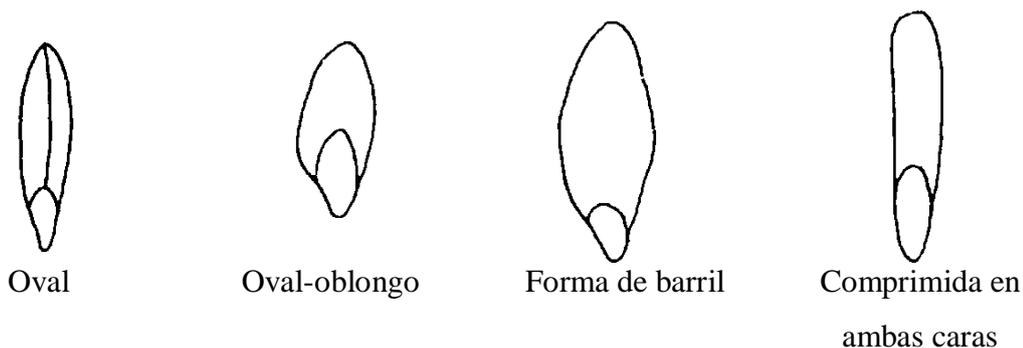
- Longitud de las aristas
Estimada a la madurez en una escala de 1 a 9, donde:
0: mutica (sin aristas)
3: cortas
7: conspicuas o largas

- N° de espiguillas por espiga:
Valor promedio de 5 espigas típicas de la accesión

- Desgrane
Fragilidad del raquis de la espiga a la madurez
0: No frágil
3: Poco desgrane (desintegración debajo de 1/3)
5: Desgrane intermedio (desintegración entre 1/3 y 1/2)
7: Completamente susceptible al desgrane (desintegración total de la espiga)

- Color de la Semilla
1: blanco
2: gris
3: verde
4: marrón
5: purpura
6: otros (especificar)

- Forma de las semillas:
 - 1: oval
 - 2: oval-oblongo
 - 3: Forma de barril
 - 4: Comprimida en ambas caras
 - 5: otros (especificar)



- Peso de 1000 granos (g)
- Vidriosidad del Grano

Semejanza a apariencia de vidrio cuando las semillas son cortadas transversalmente

 - 0: no vítreo (harinoso o suave)
 - 5: parcialmente vítreo
 - 7: Vítreo

d. Frecuencia de Mutaciones

Se contaron todas las variantes que no se observaron en el testigo sin irradiar. Estas variantes se consideraron como mutantes candidatos.

La frecuencia de mutantes candidatos se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$Fr = \frac{N^{\circ} \text{ de mutantes / caracter / tratamiento}}{N^{\circ} \text{ de plantas } M_2 / \text{tratamiento}}$$

3.3.3 Diseño experimental

- **Generación M₁**

En el caso de la generación M₁, se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar con cuatro repeticiones, para los parámetros de longitud de raíz, longitud de parte aérea, germinación y supervivencia.

- **Generación M₂ y M₃**

No se utilizó diseño experimental debido al tipo de experimento

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

OBJETIVO 1

IDENTIFICACION DEL ESPECTRO Y LA FRECUENCIA DE MUTACIONES EN UNA POBLACION M₂ DESARROLLADA MEDIANTE LA APLICACIÓN DE RAYOS GAMMA.

Este objetivo fue logrado mediante la evaluación de dos generaciones M₁ y M₂; en ellas se evaluaron los efectos somáticos y las mutaciones.

GENERACIÓN M₁

Dosimetría

La dosimetría incluyó, en primer lugar, la evaluación de los efectos somáticos de la radiación en las semillas y plántulas germinadas; en condiciones controladas en una casa de malla. Estos efectos somáticos están relacionados con los daños fisiológicos causados por la irradiación, no son heredables. Los resultados en germinación, supervivencia, altura de plántula y longitud de raíz se presentan a continuación:

Germinación

Esta variable fue medida en cuatro tiempos, a los 5, 7, 10 y 15 días después de sembrar la semilla en bandejas. En la Cuadro 06 se presentan los resultados del análisis de varianza (ANVA) del efecto de la aplicación de cuatro dosis de rayos gamma en el porcentaje de germinación. Se puede apreciar que no hubo diferencias significativas para bloque pero sí altamente significativas para tratamiento. El Coeficiente de Variación fue de 1.23%. En el Cuadro N° 07 se presenta los valores medios de germinación y la prueba de Tukey muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos de radiación y el testigo sin radiación. Se puede apreciar que el porcentaje de germinación varió de 85 a 95%, observándose una disminución del porcentaje de germinación con el incremento de la dosis.

Supervivencia

Esta variable fue medida a los 30 días y se puede apreciar que no hubo diferencias significativas para bloque pero sí altamente significativas para tratamiento. El Coeficiente de Variación fue de 2.75% (Cuadro N° 06). La supervivencia varió de 10 a 90.3%. El valor más alto de supervivencia fue observado en el testigo sin irradiación y el valor más bajo con la dosis más alta; y la prueba de Tukey muestra que los valores observados en cada dosis difieren significativamente entre ellos y con el testigo (Cuadro N° 7).

Altura de plántula

Esta variable fue medida a los 30 días después de sembrar la semilla en bandejas. En la Cuadro 06 se presentan los resultados del análisis de varianza (ANVA) del efecto de la aplicación de cuatro dosis de rayos gamma en la altura de la plántula. Se puede apreciar que no hubo diferencias significativas para bloque pero sí altamente significativas para tratamiento. El Coeficiente de Variación fue de 14.9%. En el Cuadro N° 7 se presenta los valores medios de germinación y la prueba de Tukey muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos de radiación y el testigo sin radiación. Se puede apreciar que la altura de plántula varió de 1.6 a 16.2 cm, observándose una disminución altura con el incremento de la dosis.

Longitud de raíz de plántula

Esta variable fue medida a los 30 días y se puede apreciar que no hubo diferencias significativas para bloque pero sí altamente significativas para tratamiento. El Coeficiente de Variación fue de 5.4% (Cuadro N° 06). La longitud de las raíces varió de 0.97 a 8.3 cm. El valor más alto de longitud de raíz fue observado en el testigo sin irradiación y el valor más bajo con la dosis más alta; y la prueba de Tukey muestra que los valores observados en cada dosis difieren significativamente entre ellos y con el testigo (Cuadro N° 7).

Cuadro N° 06. Cuadrados medios del ANVA de germinación, supervivencia, altura de plántula y longitud de raíz en bandejas, de la generación M₁ de centeno (*Secale cereale* L.) variedad Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 0, 100, 150, 250 y 300 Gray.

FV	G.L.	Germinación	Supervivencia	Altura plántula	Longitud raíz
BLOQUE	2	0.87	6.07	2.18	1.88**
TRAT.	4	46.4**	4381.4**	93.78**	24.73**
ERROR	8	1.2	1.73	1.66	0.052
TOTAL	14				

CV		1.23	2.75	14.9	5.4
----	--	------	------	------	-----

Cuadro N° 07. Valores medios y Prueba de Tukey de germinación (%), supervivencia (%), altura de plántula (cm) y longitud de raíz (cm) en bandejas, de la generación M₁ de centeno (*Secale cereale* L.) variedad Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 0, 100, 150, 250 y 300 Gray.

Tratamientos	Germinación (%)	Supervivencia (%)	Longitud de parte aérea (cm)	Longitud raíz (cm)
Testigo	95.0 a	90.3 a	16.2 a	8.3 a
100 Gray	90.3 b	73.0 b	11.0 b	5.3 b
150 Gray	88.0 bc	60.7 c	9.3 b	4.3 c
250 Gray	86.3 c	10.0 d	5.0 c	2.2 d
300 Gray	85.0 c	5.3 e	1.6 c	0.97 e

Promedio	88.9	47.9	8.6	4.2
----------	------	------	-----	-----

El efecto somático de los agentes muta génicos en la germinación, supervivencia, esterilidad, altura de plántula y longitud de raíces y otros han sido informados por varios autores en diferentes cultivos, agentes mutagénicos y dosis. En general concluyen que el incremento de las dosis origina una reducción en las características mencionadas; observándose diferentes grados de radio sensibilidad de las especies (Ciftci *et al.*, 2006; Albokari *et al.*, 2012; Scaldaferrero *et al.*, 2013).

GENERACIÓN M₂

Debido al efecto de las dosis altas en las plántulas y en el campo se seleccionaron los tratamientos con las dosis de 100 y 150 Gray para el programa de mejora del centeno.

Efectos Genéticos

En esta generación se observaron mutaciones de clorofila y pigmentos, mutaciones morfológicas y fisiológicas. Estas dos últimas mutaciones se consideraron en esta generación como candidatas y fueron nuevamente evaluadas en la generación M₃ para ratificar su herencia a las progenies.

Mutaciones clorofilicas

Dosis 100Gy

Se estudiaron en plantas derivadas de 698 espigas, cada espiga sembrada en un surco independiente. La población total alcanzó un total de 37036 plantas.

En el Cuadro 08 se presenta el tipo y la frecuencia de mutaciones de clorofila y pigmentos de antocianina identificada en la dosis de 100Gy.

Se puede apreciar una predominancia de la mutación clorofilica denominada "lutescens" con una frecuencia de 0.00035101. Por otro lado la mutación de pigmentos de antocianina con una frecuencia de 5.40015×10^{-5} .

Cuadro N° 08. Tipos y frecuencia de mutaciones clorofilicas observadas en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100Gy.

Total de Plantas	Mutación	N° Plantas Mutantes	Frecuencia
37036	Albina	5	0.000135004
	Chlorina	8	0.000216006
	Striata	3	8.10023×10^{-5}
	Tigrina	2	5.40015×10^{-5}
	Xanta	3	8.10023×10^{-5}
	Lutescens	13	0.000351010
	Albo viridis	9	0.000243007
	Antocianina	2	5.40015×10^{-5}

Dosis 150Gy

En el tratamiento de 150Gy se tuvo una población de 30509 plantas provenientes de las 711 espigas individuales cosechadas en la Generación M₁.

En el Cuadro 09 se presenta el tipo de mutaciones de clorofila y pigmentos de antocianina observados en esta dosis.

La mutación clorofílica más frecuente en esta dosis fue el tipo chlorina con una frecuencia de 0.000557213. Para mutaciones de antocianina se observaron “plantas con manchas rosadas” con una frecuencia de 0.000131106.

Cuadro N° 09. Tipos y frecuencia de mutaciones clorofílicas observadas en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 150Gy.

Total de Plantas	Mutación	Nº Plantas Mutantes	Frecuencia
30509	Albina	2	6.55544x10 ⁻⁰⁵
	Chlorina	17	0.000557213
	Striata	10	0.000327772
	Tigrina	5	0.000163886
	Xanta	7	0.000229440
	Lutescens	10	0.000327772
	Albo viridis	7	0.000229440
	Antocianina	4	0.000131109

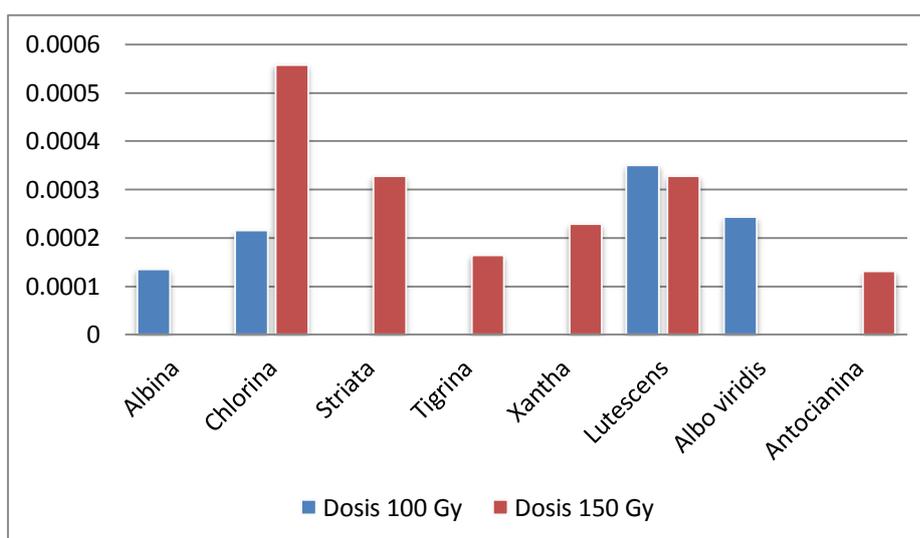


Figura N° 05. Cuadro de Barras comparativo de las frecuencias de las mutaciones clorofílicas observadas en una población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiada a dosis de 100 y 150Gy.

Se puede observar que la mutación más frecuente en la dosis de 100Gy es el tipo *lutescens* y en la de 150Gy es la mutación clorofílica *chlorina*. En la dosis de 100 Gray el espectro de mutaciones fue más amplio debido a que se observó un tipo adicional de mutación (*clorofílica albo viridis*). La frecuencia de mutaciones clorofílicas fue, en general, mayor en la dosis de 150Gy.

Favret *et al.* (1969) indicaron que las mutaciones más estudiadas son las que afectan al aparato clorofílico, la reacción a enfermedades, la producción de cera en la lámina, etc. Muchas de ellas pueden ser usadas en planes de mejoramiento. Las mutaciones clorofílicas han sido reportadas por diversos autores en diversos cultivos en trabajos de inducción de mutaciones como Bhat *et al.*, 2007; Ganapathy *et al.*, 2008, Gaibriyal *et al.*, 2009, Gomez *et al.*, 2009.

Cheema *et al.* (2003) informan la inducción de mutaciones de clorofila en arroz, con una mayor frecuencia del tipo albino en las variedades Basmati 370, Basmati Pack y Super Basmati, seguida del tipo *xantha* en Basmati 370 y el tipo *viridis* en Basmati Pack, con una dosis de 250Gy.

Reyes (2004) determinó que la frecuencia de mutaciones clorofílicas en la variedad Taray de trigo, es mayor a dosis de 250Gy, representando el 57.8% del total de mutaciones, frente a la dosis de 150Gy, la cual representó sólo el 42.2%. Este resultado es similar al obtenido en el presente trabajo donde la dosis de 250Gy generó un mayor número y frecuencia de mutaciones clorofílicas que la dosis de 150Gy.

Asimismo, Vila (2007) encontró que en población M₃ de cebada, las mutaciones clorofílicas más frecuentes fueron albinas (3.821×10^{-3}), seguidas de *chlorinas* (2.795×10^{-3}) y *xanthas* (1.582×10^{-3}). En la generación M8 de esta misma población, Aldaba (2014), encontró que la mutación clorofílica más frecuente fue *striata* con una frecuencia de 1.7063314%, seguido de *tigrina* (0.2516343%) y *chlorina* (0.1452073%), en cebadas de 6 hileras.

Argumedo (2013) encontró que para plantas de trigo irradiadas con dosis de 200 y 300Gy, los mutantes más frecuentes fueron las plantas albinas para cada dosis (2.03×10^{-3} y 2.54×10^{-3}), seguidas de plantas *xantha* (1.34×10^{-3} y 2.28×10^{-3}), y luego las mutaciones de antocianinas (0.61×10^{-3} y 1.65×10^{-3}).

Aldaba (2014) reporta en cebada irradiada con 250Gy mutaciones de clorofila del Striata, Albina, Xantha, Chlorina, Tigrina, Lutescens.

“Mutaciones Candidatas”

En aspectos fisiológicos y morfológicos las variantes observadas se consideran como probables mutaciones o mutaciones candidatas, debido a que el cambio o variante debe heredarse en las siguientes generaciones para ser consideradas mutaciones.

Precocidad

En la generación M₂ para ambas dosis se identificó un mutante precoz. El testigo de la variedad Sorom llegó a la etapa de floración a los 80 dds, mientras que 21 plantas de la dosis de 100Gy y 67 plantas de la dosis de 150Gy llegaron a la floración a los 60 dds. (Cuadro 10).

Cuadro N° 10. Números y frecuencia de “mutantes candidatos” precoces observados en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sonko irradiado con rayos gamma a las dosis de 100 y 150Gy.

Dosis	Número de mutantes precoces	Frecuencia
100 Gy	21	0.000567016
150 Gy	67	0.002196073

Como se puede observar, el valor de la frecuencia encontrada en la dosis de 150 Gy supera a la de la dosis de 100 Gy.

Reyes (2004) encontró que a dosis de 150Gy en trigo, el 45% de los mutantes presentaron precocidad frente al testigo, y a dosis de 250Gy fue el 70.29%.

Argumedo (2013) obtuvo plantas con 12 días de precocidad frente al testigo, en una población de mutante de trigo irradiada con rayos gamma a dosis de 200 y 300Gy.

Aldaba (2014) informa mutaciones de precocidad con una frecuencia de mutación de 0.198 por ciento en cebada con una dosis de 250Gy.

Longitud de la espiga

La longitud promedio de las espigas de las plantas testigo fue igual a 12.47 cm. Considerando este valor se identificaron y seleccionaron todas aquellas superiores en un 30% a esta longitud. En el Cuadro 11 se presentan los resultados y se puede apreciar en el tratamiento de 100Gy un total de 350 plantas con espigas largas y se les consideró “mutantes candidatos” para mayor longitud de espiga con una frecuencia de 0.009450265; mientras que en la dosis de 150Gy se encontró un total de 231 plantas con espigas más largas o “mutantes candidatos” con una frecuencia de 0.007571536.

Cuadro N° 11. Número y frecuencia de “mutantes candidatos” con espigas largas observadas en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100 y 150Gy.

Dosis	Número de mutantes	Frecuencia
100Gy	350	0.009450265
150Gy	231	0.007571536

Longitud de las aristas

La variedad Sorom presenta una espiga con aristas largas según el Descriptor de IBGR empleado. En las poblaciones de ambas dosis se observó variantes para esta característica: plantas con espigas sin arista y con aristas cortas. Por lo tanto, todas las plantas con estas variantes en la arista se consideraron “mutantes candidatos muticos (sin arista) y con arista corta” y se seleccionaron. En el Cuadro 12 se presentan los resultados observados.

Para la dosis de 100Gy se encontraron 44 “mutantes candidatos” sin aristas con una frecuencia de 0.001188033 y 237 “mutantes candidatos” con aristas cortas, con una frecuencia de 0.006399179. Para la dosis de 150Gy se identificaron 72 “mutantes candidatos” sin aristas con una frecuencia de 0.002359959 y 139 “mutantes candidatos” con aristas cortas, con una frecuencia de 0.004556033.

Cuadro N° 12. Número y frecuencia de “mutantes candidatos” morfológicos con distinta longitud de aristas observados en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100 y 150Gy.

Tipo de cambio	Dosis 100 Gy		Dosis 150Gy	
	Número de mutantes	Frecuencia	Número de mutantes	Frecuencia
Espigas sin aristas	44	0.001188033	72	0.00235996
Espigas con aristas cortas	237	0.006399179	139	0.00455603

Como se puede ver, la dosis de 150Gy generó un mayor número de “mutantes candidatos” de espigas sin aristas. Por otro lado, la dosis de 100Gy generó un mayor número de espigas con aristas cortas.

Argumedo (2013), encontró mutantes de trigo con aristas cortas: 2 mutantes en dosis de 200Gy, y 5 en dosis de 300Gy.

Aldaba (2014) informa mutaciones en la inflorescencia o espiga muy variadas en cebada obtenidas con una dosis de 250 Gray. Señala las siguientes modificaciones: “arista larga” (L) en el material parental a: “arista corta” (C) en 32 líneas mutantes, “arista acampanada de caperuza sésil” (ACS) en una línea mutante, “arista acampanada de caperuza elevada” (ACE) en una línea mutante, “arista muy crespada” (MC) en cuatro líneas mutantes y “arista ondeada” (OND) en ocho líneas mutantes. Las frecuencias generales fueron de 5,10062 por ciento, 0,19507 por ciento, 0,18457 por ciento, 0,43241 por ciento y de 1,08993 por ciento respectivamente.

Otras mutaciones morfológicas

En el experimento se encontraron otros tipos de variaciones en espiga o “mutantes candidatos” en formas de espiga no descritas en los descriptores morfológicos y fisiológicos para el centeno y triticale.

Las posibles mutaciones observadas fueron las siguientes:

- Mutantes con espigas bifurcadas: desde el pedicelo la espiga se divide en dos espigas, una más corta que la otra.
- Mutantes con espigas ramificadas: en ciertas zonas cercanas a la base de la espiga, el raquis se ramifica formando pequeñas espigas además de la principal con unas 3

a 4 espiguillas. Espigas ramificadas de apariencia similar existen en *Triticum turgidum* var. *Turgidum*.

- Mutantes con espigas con entrenudo largo: en estas espigas se observó la presencia de un entrenudo del raquis mucho más largo que los demás; este entrenudo aparece en el tercio inferior de la espiga.
- Mutantes con espigas densas o compactas.

En el Cuadro 13 y 14 se presentan la frecuencia observada en las diferentes dosis. Se puede apreciar valores diferentes por dosis de radiación. Solamente en la dosis de 100 Gy se encontró la variantes espiga densa o compacta.

Cuadro N° 13. Número y frecuencia de otros “mutantes candidatos” morfológicos observados en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 100Gy.

Tipo de cambio	Número de mutantes	Frecuencia
Espigas Bifurcadas	12	0.000324009
Espigas ramificadas	158	0.004266119
Espigas con entrenudo largo	230	0.006210174
Espigas densas	6	0.000162005

Cuadro N° 14. Número y frecuencia de otros “mutantes candidatos” morfológicos observados en la población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiado con rayos gamma a la dosis de 150Gy.

Tipo de cambio	Número de mutantes	Frecuencia
Espigas Bifurcadas	2	6.55544x10 ⁻⁵
Espigas ramificadas	102	0.003343276
Espigas con entrenudo largo	910	0.029827264

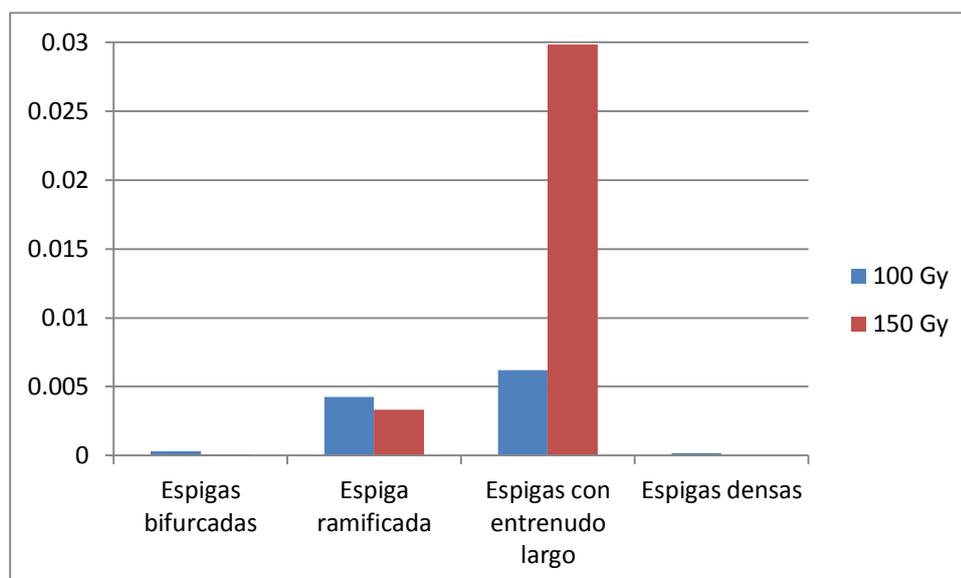


Figura N° 06. Cuadro de Barras comparativo de las frecuencias de otras “mutaciones candidatas” en morfología de espigas en una población M₂ de Centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiada a dosis de 100 y 150Gy.

Como se puede observar en el gráfico, la dosis de 100Gy generó un mayor número de mutantes que la dosis de 150Gy, excepto en la mutación de espigas con entrenudo largo.

La dosis de 100Gy generó 6 probables mutantes de espigas más densas que el testigo. Este cambio no se observó en la población proveniente de la dosis de 150Gy.

En un experimento de inducción de mutaciones en trigo var. Taray, en una población M₃, con irradiación gamma, Reyes (2004) no encontró cambios o mutaciones morfológicas de características como tipo y color de follaje, tipo de arista, color de grano y densidad de la espiga, tanto a dosis de 150Gy y 250Gy.

Por otro lado, Aldaba (2014) encontró modificaciones en densidad de espiga, señala que se modificó de “intermedia” (INT) en el material parental a: “laxa” (L) y “densa” (D). En el grupo de 6 hileras se encontraron espigas densas en seis líneas mutantes, con una frecuencia general de 0,73303 por ciento. En el grupo de 2 hileras se encontraron los siguientes cambios: de espiga “intermedia” a “laxa” en 22 líneas mutantes y a “densa” en seis líneas mutantes. Las frecuencias fueron 2,37376 y 0,70125 por ciento respectivamente.

Según Dobrovolskava et al. (2009), la aparición de espiguillas súper numerosas es raro. El gen responsable del llamado rasgo “espiga monstruosa” en el centeno fue mapeado en genotipos de poblaciones F₂ con marcadores micro satélites.

OBJETIVO 2

DETERMINACION DE LA ESTABILIDAD DE LAS MUTACIONES EN UNA POBLACION M₃.

Generación M₃

Prueba de Progenie y homocigosidad

En esta generación se realizó la prueba de progenie que determina si las variantes fisiológicas o morfológicas observadas en la Generación M₂ llamadas “mutaciones candidatas” son realmente mutaciones.

Los mutantes candidatos fueron sembrados en forma independiente y aislada.

A continuación se presentan las mutaciones observadas en esta generación:

Mutaciones morfológicas de espiga

En el Cuadro 15 se puede apreciar que en la dosis de 100Gy se mantienen o se heredan las mutaciones espiga ramificada, espiga bifurcada y espigas largas provenientes de espigas con el mismo cambio de la población M₂.

Es importante, sin embargo, señalar que se observó en todos los casos un porcentaje de segregación en todas las plantas; esto se debe a que el centeno tiene polinización cruzada y se considera alógama.

Cuadro N° 15. Número y estabilidad de mutaciones morfológicas observadas en la población M₃ para la dosis de 100Gy.

Tipo de cambio	N° mutantes encontrados	% estabilidad
Espigas ramificadas	76	0.630391507
Espigas bifurcadas	1	0.103734440
Espigas con entrenudo largo	0	0
Espigas con aristas cortas	0	0
Espigas sin aristas	0	0
Espigas largas	6	0.020828994

Por otro lado, para la dosis de 150Gy se observó que se presentaron espigas ramificadas y espigas con entrenudos largos (Cuadro 16).

Cuadro N° 16. Número y estabilidad de mutaciones morfológicas observadas en la población M₃ provenientes de la generación M₂ para la dosis de 150Gy.

Tipo de cambio	N° mutantes encontrados	% estabilidad
Espigas ramificadas	84	1.079414033
Espigas bifurcadas	0	0
Espigas con entrenudo largo	1	0.081300813
Espigas con aristas cortas	0	0
Espigas sin aristas	0	0
Espigas largas	0	0

Mutaciones fisiológicas

Los candidatos precoces de la generación M₂ con 60 dds a la floración y el testigo con 80 dds a la floración fueron sembrados y en la generación M₃, a los 60 días después de la siembra los mutantes iniciaron la floración manteniendo la diferencia con el testigo en aproximadamente 20 días para ambas dosis (Cuadro 17).

Cuadro N° 17. Número y estabilidad de mutantes precoces observados en la generación M₃ provenientes de la población M₂.

Dosis	N° espigas totales	N° de espigas emergidas a los 60 dds.	% estabilidad
100Gy	2060	2060	100
150Gy	5112	5112	100

Vila (2007) determinó los siguientes porcentajes de transmisibilidad de mutantes en una población M₃ de cebada UNA-La Molina-96 irradiada con rayos gamma a dosis de 150Gy: arista corta, 100%;, estría ornamental, 100%, tipo silvestre, 91.5%; espiga crespa, 65%; espiga amarilla, 52.9%; tallo bajo, 26.5%; espiga erecta, 21.4%; dos hileras, 16.3%; tallo alto, 14.5%; esterilidad masculina, 11.9%; tardío, 8.7%; y estría púrpura, 3.4%.

En la presente tesis en la población M₃ se volvieron a encontrar la mayor parte de las mutaciones observadas en la generación anterior, excepto por los caracteres de espigas con aristas cortas y espigas sin aristas, en ambas dosis, demostrándose así que los caracteres diferentes o variantes observadas en la generación M₂ fueron mutaciones de genes y fueron

transmitidos a la descendencia o progenie. Las frecuencias observadas variaron debido a diferencias en el tamaño de las poblaciones en las dos generaciones y al porcentaje de alogamia del centeno. En el Cuadro 18 y 19 se muestran los valores comparativos en ambas generaciones.

Cuadro N° 18. Tipos y frecuencias de mutaciones observadas en la Generación M₃ y M₂ de centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiada con rayos gamma a la dosis de 100 Gray.

Tipo de cambio	% frecuencia M ₂	% frecuencia M ₃
Espigas ramificadas	0.426611945	0.343218012
Espigas bifurcadas	0.032400907	0.038440417
Espigas con entrenudo largo	0.621017388	0.046677650
Espigas con aristas cortas	0.639917918	0
Espigas sin aristas	0.118803326	0
Espigas largas	0.945026461	0.021965953
Plantas precoces	0.056701588	2.828116420

Cuadro N° 19. Tipos y frecuencias de mutaciones observadas en la Generación M₃ y M₂ de centeno (*Secale cereale* L.) var. Sorom irradiada con rayos gamma a la dosis de 150 Gray.

Tipo de cambio	% frecuencia M ₂	% frecuencia M ₃
Espigas ramificadas	0.334327575	0.397215397
Espigas bifurcadas	0.006555443	0.049140049
Espigas con entrenudo largo	2.982726409	0.038902539
Espigas con aristas cortas	0.455603265	0
Espigas sin aristas	0.235995936	0
Espigas largas	0.757153627	0.006142506
Plantas precoces	0.219607329	10.46683047

Wani (2011) en un experimento con semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) irradiadas con rayos gamma a dosis de 150, 200, 300 y 400Gy, tratadas con EMS a concentraciones de 0.1%, 0.2%, 0.3% y 0.4% y tratamientos combinados, encontró mutaciones morfológicas como plantas altas y enanas, hojas anchas, flores blancas y de alto rendimiento en la generación M₂. La mayor parte de estos mutantes fueron confirmados de ser verdaderos en la generación M₃ excepto por los de alta esterilidad.

Gómez *et al.* (2010) observaron en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Pasankalla, tratada con dosis de 150, 250 y 350Gy de rayos gamma, mutaciones en las dos dosis (150Gy y 250Gy) y fueron en la ramificación, longitud de pedicelos, reducción de altura de planta y ciclo de vida, el color del tallo y hojas de plantas, forma de hoja y mejor tipo de planta. Se observó más de dos tipos de mutaciones por planta, especialmente en la dosis de 250Gy. En la Generación M₃ se encontró el mismo espectro de mutaciones siendo, a este nivel lo más valioso, las mutaciones en altura de planta, ciclo de vida y color de grano.

OBJETIVO 3

IDENTIFICACION DE NUEVAS MUTACIONES CANDIDATAS EN UNA POBLACION M₃.

Nuevas mutaciones candidatas

En la población M₃, en ambas dosis, se observó un único cambio distinto a los observados anteriormente, el cual se denominó “espigas erectas” ya que son espigas distintas a las vistas en el testigo y las generaciones anteriores, las cuales eran típicas espigas que caían de la parte media.

Se observaron 30 espigas de este tipo de cambio en la dosis de 100Gy, con una frecuencia de 0.000823723, y 31 espigas erectas con una frecuencia de 0.001269451 en la dosis de 150Gy.

Cuadro N° 20. Número y frecuencia de espigas erectas observadas en la población M₃ de *Secale cereale* L. var. Sorom.

Tipo de cambio	Dosis 100Gy		Dosis 150Gy	
	N° de mutantes	Frecuencia	N° de mutantes	Frecuencia
Espigas erectas	30	0.000823723	31	0.001269451

Si bien este tipo de espiga no presenta alguna característica especial, en zonas de granizadas pueden disminuir el rendimiento ya que el granizo provoca una mayor caída de granos que lo que provoca en otros tipos de espigas.

V. CONCLUSIONES

OBJETIVO 1

- Las dosis de 100Gy y 150Gy indujeron mutaciones en el cultivo de centeno.
- La mutación de clorofila tipo lutescens fue la más frecuente en la dosis de 100Gy, con una frecuencia de 0.00035101; mientras que en la dosis de 150Gy, fue la mutación clorofílica chlorina con una frecuencia de 0.000557213.
- La mutación morfológica entrenudo largo en la espiga fue la más frecuente en ambas dosis, presentándose un número de 230 y una frecuencia de 0.006210174 en la dosis de 100Gy, y aún más común en la de 150Gy siendo un total de 910 espigas mutantes con una frecuencia de 0.029827264.
- En ambas dosis se encontraron mutantes precoces promisorios de al menos 20 días de precocidad (60 días después de la siembra) frente al testigo (80 días después de la siembra).

OBJETIVO 2

- Las mutaciones morfológicas en general fueron transferidas de una generación a la otra.
- Las mutaciones de espigas ramificadas, espigas bifurcadas, espigas con entrenudo largo, espigas largas fueron encontradas en ambas dosis con un frecuencia de 0.343218012, 0.038440417, 0.04667765 y 0.021965953 respectivamente para la dosis de 100Gy; y 0.397215397, 0.049140049, 0.038902539 y 0.006142506 respectivamente para la dosis de 150Gy en la Generación M₃.
- No se observaron las mutaciones en longitud de arista
- Para las mutaciones candidatas de precocidad, las plantas se mantuvieron estables en un 100% en la tercera generación.

OBJETIVO 3

- Se observó una nueva mutación candidata en la generación M₃ para ambas dosis, la cual fue denominada como espiga erecta.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar evaluando las siguientes generaciones con ensayos comparativos de rendimiento, pruebas de estabilidad, resistencia a factores bióticos y abióticos y calidad de los granos de los mutantes seleccionados.

VII. BIBLIOGRAFIA

AKGÜN, I. y TOSUN, M. 2004. Agricultural and cytological characteristics of M1 perennial rye (*Secale montanum*) as effected by the application of different doses of gamma rays. Pakistan Journal of Biological Sciences 7 (5): 827-833.

ALBOKARI, M.M.A., ALZHRANI, S.M. AND ALSALMAN, A.S. 2012. Radio sensitivity of some local cultivars of wheat (*Triticum aestivum*) to gamma irradiation. Bangladesh. J. Bot. 41(1): 1-5.

ALDABA, G. 2014. Identificación de líneas mutantes de cebada (*Hordeum vulgare* L.) con valor agronómico y calidad en una población M8 de va la variedad UNA-La Molina 96 desarrollada con irradiación gamma. Tesis para optar por el título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima, Perú. 154 p.

ARGUMEDO, K. 2013. Inducción de mutaciones en trigo (*Triticum turgidum* spp. *durum*) selección Arequipa empleando rayos gamma. Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima, Perú. 57 p.

BABAEI, A.; NEMATZADEH, G. A.; AVAGYAN, V. & HASHEMI, H. 2010. Radio sensitivity studies of morpho-physiological characteristics in some Iranian rice varieties (*Oryza sativa* L.) in M₁ generation. Afr J Agric Res 5(16): 2124 - 2130 p.

BHAT, A.; KHAN, A. and 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.

BUSHUK, W. 1976. *Rye: Production, chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, pp. 1-11.

CHEEMA, A. A.; Atta, B.M. 2003. Radiosensitivity studies in basmati rice. Pak. J. Bot., 35(2): 197-207.

CIFTCI, C.Y., TÜRKAN, A.D., KHAWAR, K.M., ATAK, M. AND ÖZCAN, S. 2006. Use of gamma rays to induce mutations in four pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. Turk. J. Biol., 30: 29-37.

CUBERO, J.I. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. Ediciones Mundi-Prensa S.A. Madrid, España.

DE LA VEGA, J.I. 1969. Los cereales. Ediciones Mundi-Prensa S.A. Madrid, España. 346 p.

DOBROVOLSKAYA, O., MARTINEK, P., VOYLOKOV, A. V., KORZUN, V., AND 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.

DONINI, P. & SONNINO, A. 1998. Induced Mutation in Plant Breeding: current status and future outlook. In: Somaclonal Variation and Induced Mutation in Crop Improvement. S. Mohan Jain, D. S. Brar and B. S. Ahloowalia Editors. Kluwer Academic Publishers. pp. 255-291

ELLIOT, F. 1964. Citogenética y Manejo de Plantas. Cía Editorial Continental S.A. México, D.F.

EROGLU, Y., EROGLU, H.E. y ILBAS, A.I. 2007. Gamma ray reduces mitotic index in embryonic roots of *Hordeum vulgare* L. Advances in Biological Research 1 (1-2): 26-28.

FAVRET, E.; RYAN, G.; and MALVAREZ, E. 1969. Mutaciones inducidas que afectan el crecimiento inicial de la cebada. Induced Mutations in Plants. (Proceeding of a Symposium Pullman), IAEA, Viena pp. 109 – 121.

FEEKES, W. 1941. De tarwe en haar milieu. *Versl. techn. Tarwe Comm.* 12, 523-888.

FITA, A.; Rodríguez – Barruezo, A. & Prohens, J., 2008. Genética y Mejora Vegetal. España, Editorial Universidad Politécnica de Valencia.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). (<http://faostat.fao.org/?lang=en>). Consulta: 22 de noviembre de 2012.

GAIBRIYAL, M.; BINI, T. AND SMITH, S. 2009. Induced Chlorophyll Mutations in Black Gram. Asian Journal of Agricultural Sciences 1(1): 1-3.

GANAPATHY, S.; NIRMALAKUMARI, A.; SENTHIL, N.; SOUFRAMANIEN, J. AND RAVEENDRAN, T. 2008. Isolation of Macromutations and Mutagenic Effectiveness and Efficiency in Little Millet Varieties. World Journal of Agricultural Sciences Vol. 4, n°4, 483-486.

GARDNER, E. J. 1979. Principios de Genética. 5 Ed. México, Editorial Limusa. 716 p.

GOMEZ, L., EGUILUZ, A., JIMÉNEZ, J. AND FALCONÍ, J. AND HEROS E. 2009. Barley (*Hordeum vulgare*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*) improvement by mutation induction in Peru. In: Shu, Q.Y. (ed.) Induced plant mutations in the genomics era. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 330-332.

GOMEZ, L., EGUILUZ, A. & FALCONI, J. 2010. Mejoramiento genético de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Pasankalla empleando inducción de mutaciones. Universidad Nacional Agraria. Programa de Cereales y Granos Nativos. Lima, Perú. p.43.

GUSTAFSSON, A. 1969. A Study of Induced Mutations in Plants. Introductory Address. In: Induced Mutations in Plants. IAEA, Viena.

IAEA/FAO mutant variety genetic stock database: <http://mvgs.iaea.org>.

IAEA (International Atomic Energy Agency). 1972. Induced mutations in vegetative propagated plants. Vienna. 220 p.

IAEA (International Atomic Energy Agency). 1984. Selection in Mutation Breeding. Proceedings of consultant Meeting. Joint FAO/IAEA.

IAEA (International Atomic Energy Agency). 1997. Mutant Varieties Data Base. FAO/IAEA. Vienna, Austria. 225 p.

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. 1985. Descriptor for Rye and Triticale. IBPGR Secretariat. Rome, Italy. 18 p.

IRFAQ, M. & NAWAB, K. 2001. Effect of gamma irradiation on some morphological characteristics of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *OnLine Journal of Biological Sciences* 1 (10): 935-937.

KRAMER, S., PIOTROWSKI, M., KUHNEMANN, F., AND EDELMANN, H. G. 2003. Physiological and biochemical characterization of ethylene-generated gravicompetence in primary shoots of coleoptile-less gravi-incompetent rye seedlings. *J. Exp. Bot.* 54: 2723–2732.

KONZAK, C.F.; NILAN R.A.; WAGNER R. AND FOSTER R.J. 1965. Efficient chemical mutagenesis. In IAEA/FAO. The use of induced mutations in plant breeding. Oxford, Pergamon Press. pp. 346-347.

LANGER, R.H.M. 1991. *Agricultural Plants* 2nd ed. Cambridge University Press. New York, USA. 391 p.

LAGODA, P. (2012, Septiembre 03). Why radiation induced mutation? IAEA BULLETIN, 12, 53. Extraído el 22 de noviembre de 2012, desde http://issuu.com/iaea_bulletin/docs/iaeabulletin_food?mode=window&backgroundColor=%23222222

LAWRENCE, A. 1965. Radiation-induced Polygenic mutation. *The use of induced mutation in plant breeding*, report of the FAO/IAEA, technical meeting. Roma, Italy. Pp. 444-445.

LOEGERING, W.Q. 1968. Problems of storing plant disease data for retrieval by automatic data processing machines. *Wash. Agric. Exp. Sta. Bull.* 705, pp.6.

LOPEZ, L. 1991. Cultivos Herbaceos Vol 1. Cereales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 539 p.

MALUSZYNSKI, M.; AHLOOWALIA, B. S. & SIGURBJORNSSON, B. 1995. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85: 303 – 315 p.

MALUSZYNSKI, M.; AHLOOWALIA, B. S. 2001. Induced mutations – A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118: 167 – 173 p.

MICKIE, A. 1982. Durability of resistance in induced mutants. The Netherlands. Pp. 24-28. Austria.

MUTATION BREEDING NEWSLETTER. 2001. Joint FAO/IAEA: Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. Vienna. 60p.

MUTATION BREEDING NEWSLETTER N° 1. 2005. Joint FAO/IAEA: Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. Vienna. 24 p.

NOVAK, F. & BRUNNER H. 1992. Plant Breeding: Induced mutation technology for crop improvement. IAEA bulletin, 4: 25-33 p.

ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (OIEA). (<http://mvgs.iaea.org/>) Consulta: 22 de noviembre de 2012.

POEHLMAN, J. & SLEPER, D. 2003. Mejoramiento genético de las cosechas. 2 ed. México. Editorial Limusa. 511 p.

ROSA, E., BIANCO, C., MERCADO, S. Y SCAPPINI, E. (2005). Poáceas de San Luis. Distribución e importancia económica. Argentina.

REYES, V. 2004. Evaluación de la variación genética en la generación M3 de *Triticum turgidum* ssp. *durum* var. Taray desarrollado mediante la aplicación de rayos gamma. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo. Lima, Perú. 91 p.

ROBLES, S. R. 1986. Genética Elemental y Fitomejoramiento Práctico. México. Editorial Limusa. 477 p.

RUSSELL, R. S. 1977. Plant Root Systems. McGraw-Hill, New York.

SANJINEZ, F. 2001. Mejoramiento Genético del Cultivo de Arroz (*Oriza sativa* L.), mediante mutaciones inducidas. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Escuela de Post-Grado. Especialidad de Mejoramiento Genético de Plantas. Tesis de Grado de Magister Scientiae. Lima, Perú. 78 p.

SAVA•KAN, C. Y M.C. TOKER. 1991. The effects of various doses of gamma irradiation on the seed germination and root tip chromosomes of rye (*Secale cereale* L.). Turkish Journal of Botany, 15: 349-359.

SCALDAFERRO, M.A., PRINA, A.R., MOSCONE, E.A. AND KWASNIEWSKA, J. 2013. Effects of ionizing radiation on *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (Solanaceae). Applied Radiation and Isotopes 79: 103-108.

SCHLEGEL, R., KYNAST, R., SCHWARZACHER, T., RÖMHELD, V., AND WALTER, A. 1993. Mapping of genes for copper efficiency in rye and the relationship between copper and iron efficiency. Plant Soil 154: 61–65.

SCHLEGEL, R.H.J. 2013. Rye: Genetics, breeding and cultivation. CRC Press. New York, USA. 382 p.

UNDERSTANDING EVOLUTION. UNIVERSITY OF CALIFORNIA – BERKELEY. (http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/0_0_0/mutations_03) Consulta: 22 de noviembre de 2012.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

(<http://www.ucm.es/info/genetica/grupod/Mutacion/mutacion.htm#Terminologia>).

Consulta: 22 de noviembre de 2012.

USDA NATURAL RESOURCES CONSERVATION SERVICE.

(<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SECE>) Consulta: 10 de marzo de 2015.

VILA, D. 2007. Caracterización de líneas mutantes M3 de cebada (*Hordeum vulgare* L.) bajo condiciones de La Molina. Tesis para obtener el grado de Magister Scientiae. Lima, Perú.

WANI, A. 2011. Spectrum and frequency of macromutations induced in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Turk J Biol 35: 221 – 231 p.

WATKIN, W. 1965. Principios de genética y mejora de las plantas. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 527p.

ZADOKS, J.C., CHANG, T.T., KONZAK C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*. Vol. 14, 415-421.

VIII. ANEXOS

Mutaciones clorofílicas observadas en la generación M₂.



Albina



Chlorina



Tigrina



Striata



Antocianinas



Xanta



Lutescens



Albo viridis

Mutaciones morfológicas observadas en la generación M₂.



Espigas largas



Espigas ramificadas



Espigas bifurcadas



Espigas con entrenudo largo

Nuevas mutaciones morfológicas observadas en la generación M₃.



Espigas erectas