EFECTOS MORFOLÓGICOS INDUCIDOS EN BERENJENA (*SOLANUM MELONGENA L.)* VARIEDADES CO015 y PH10 POR LA APLICACIÓN DE UN RANGO DE DOSIS DE RADIACIÓN GAMMA

CAMILO ESTEBAN FLAUTERO PINEDA
JUAN DAVID ROMERO BETANCOURT

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C
2016

EFECTOS MORFOLÓGICOS INDUCIDOS EN BERENJENA (*SOLANUM MELONGENA L.)* VARIEDADES CO015 y PH10 POR LA APLICACIÓN DE UN RANGO DE DOSIS DE RADIACIÓN GAMMA

CAMILO ESTEBAN FLAUTERO PINEDA
JUAN DAVID ROMERO BETANCOURT

Proyecto de Trabajo de Grado para Optar al Título de Licenciado en biología

Director
MSc. LUIS ARMANDO QUEVEDO CÁRDENAS

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C
2016

CONTENIDO

pág.

RESUMEN……6

INTRODUCCIÓN. ……..……..7

1. PLANTEAMIENTO……..8

1.1 PROBLEMA……..……..8

1.2 JUSTIFICACIÓN ……..8

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA……..……..10

2.1 Antecedentes……..……10

2.2 Berenjena……..……..……11

2.2.1 Generalidades……11

2.2.2 Morfología……11

2.2.3 Características de las variedades CO015 y PH10……..…12

2.3 Parámetros recomendados por la *International Atomic Energy Agency* (IAEA) para estimar el grado de daño a las plantas en la generación M1……..13

2.4 Radiación ionizante……..……..14

2.4.1 Tratamientos de radiación……14

2.4.2 Naturaleza de las mutaciones……..……..…..15

2.4.3 Efectos de la radiación ionizante en vegetales……..15

3. OBJETIVOS……..…..…17

3.1 General. ……17

3.2 Específicos……..…….…..…17

4. MATERIALES Y MÉTODOS……..……18

4.1 Equipos.……...……18

4.2 Reactivos.…….…….……...18

4.3 Vidriería.…….....…18

4.4 Otros materiales…….……18

4.5 UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO……....19

4.5.1 Área de laboratorio…….19

4.5.2 Laboratorios BIOMOL, Universidad Distrital Francisco José de Caldas……....19

4.6 METODOLOGÍA……..……19

4.6.1 Diseño Experimental……..19

4.6.2 Irradiación de semillas. ……..……..20

4.6.3 Establecimiento de las condiciones óptimas en laboratorio para la toma de medidas en las plántulas……..…….....20

4.6.4 Medición de las variables a estimar de acuerdo a los cambios morfológicos inducidos……..…..21

4.6.5 Registro y clasificación de las respuestas obtenidas mediante comparación con los parámetros recomendados por la *International Atomic Energy Agency* (IAEA) para estimar el grado de daño a las plantas en la generación M1, y los descriptores morfológicos para berenjena del IBPGR……..22

5. RESULTADOS ……...…….23

5.1 Altura de plántulas a los 19 días……23

5.2 Modelo ajustado de regresión simple para altura…….24

5.3 Porcentaje de germinación a los 21 días…….25

5.4 Porcentaje de emergencia a los 14 días……..26

5.5 Largo de la lámina foliar a los 45 días…….27

5.6 Ancho de la lámina foliar a los 45 días……28

5.7 Efectos morfológicos inducidos por las dosis de radiación gamma……..29

5.7.1 Descripción de los efectos inducidos……..……32

6. DISCUSIÓN……37

7. CONCLUSIONES…….39

8. RECOMENDACIONES……40

9. BIBLIOGRAFÍA……41

10. ANEXOS……..……43

10.1 FIGURAS ……....43

10.2 TABLAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA……....44

10.3 GRÁFICOS……..……..…….....46

RESUMEN

Con el fin de encontrar un rango de dosis para inducir mutaciones de interés se realizó la curva de radiosensitividad para *Solanum melongena L.* variedades CO015 y PH10, mediante el reporte y la clasificación de los efectos morfológicos generados por la exposición de las semillas a dosis agudas de radiación gamma en un rango entre 0 y 600 Gy, utilizando como fuente Co^{60}. Las variedades utilizadas son producto de los programas de mejoramiento desarrollados para esta especie en la universidad de Córdoba, por los fitomejoradores Hermes Araméndiz y Miguel Espitia. Las semillas fueron repartidas según su variedad en un grupo control y seis tratamientos diferentes de 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy y 600 Gy. Se irradiaron aproximadamente 3000 semillas en la Unidad de irradiación con fuente Cobalto 60 tipo C-188 del CNEA (INGEOMINAS). Posterior al tratamiento se indujo el crecimiento bajo condiciones controladas en un diseño completamente al azar de 7x2 con tres repeticiones, para poder comparar la incidencia de los tratamientos en las plántulas evaluando cinco variables: la altura, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, el largo y ancho de la lámina foliar durante los primeros 45 días de crecimiento.

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos, así como entre los efectos generales de estos sobre cada variedad. Luego, se ajustaron los datos de la altura a una regresión lineal simple independiente para determinar la dosis apropiada que permita la reducción del porte de la planta entre el 30% y 50%, manteniendo estabilidad fisiológica (Kodym et al, *en* FAO, 2011). Previamente, se evaluaron y establecieron las condiciones adecuadas en el laboratorio de biotecnología vegetal de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, con el fin de garantizar el crecimiento normal de las plántulas irradiadas en condiciones homogéneas durante 45 días, procurando evitar la intervención de factores externos para realizar la toma de datos de las respuestas, sin generar perjuicio o estrés en las plántulas durante este proceso. Se comprobó que no existen diferencias significativas entre la respuesta de la altura entre las variedades estudiadas, reportando entonces la LD50 sobre los 400 Gy. Además, con base en los datos de la regresión se pudo determinar que un rango de dosis entre 280 y 370 Gy redujo el porte de la planta entre el 30% y el 50% tomando como referente la variable altura de la plántula a los 19 días.

PALABRAS CLAVES: *Solanum melongena*; radiosensitividad*;* Cobalto 60.

INTRODUCCIÓN

La berenjena (*Solanum melongena L.)* se ha convertido gradualmente en uno de los cultivares de gran importancia para el caribe colombiano. Los departamentos donde se encuentran las mayores áreas destinadas a su cultivo son: Córdoba con 142 hectáreas sembradas, 1364 toneladas producidas; Sucre con 66 hectáreas sembradas,1203 Toneladas producidas; y en menor proporción regiones en el Tolima con 29 hectáreas sembradas,145 toneladas producidas y en el Valle del Cauca con 22 hectáreas sembradas,169 toneladas producidas (ENA 2006). Sin embargo, este rendimiento ha sido comparativamente bajo con el de otros países, debido a que el manejo implementado por el sistema agronómico nacional no ha permitido generar productos que puedan competir a gran escala con los altos estándares de calidad que se exigen a nivel internacional, lo anterior ligado a la carencia de tecnologías que permitan al sistema de producción sobrepasar las barreras y hacerlo más competitivo (Araméndiz, 2008). Así, para el año 2011 Colombia reportó una producción de apenas 2616 toneladas, ubicándose en la posición 58 de producción a nivel mundial (FAO, 2011).

El uso de radiaciones ionizantes es un método que permite inducir variabilidad genética y que resulta muy eficiente en la obtención de mutantes con importancia agronómica. La aplicación de radiaciones gamma puede disminuir el tiempo para la obtención de genotipos superiores; por ello su aplicación debe ser precedida por ensayos que permitan determinar la dosimetría adecuada para cada especie, evaluando la radiosensitividad del material expuesto, tanto para familiarizarse con los efectos de las radiaciones sobre éste (Singh, 1994, *en* Ulukapi, 2015), como para evaluar el porcentaje de sobrevivencia de los materiales a las dosis. (Aruna J, 2010)

Zeerak (1991) determinó que las radiaciones gamma constituyen un agente apropiado para trabajar mutagénesis en berenjena. Si bien esta técnica es de uso frecuente en los programas de fitomejoramiento del país, no se tienen datos detallados de su aplicación en las variedades seleccionadas para este estudio. Por lo tanto el objetivo principal fue reportar los efectos morfológicos inducidos en *Solanum melongena L var*. CO015 y PH10 por la aplicación de seis dosis de radiación gamma: 100Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy y 600 Gy, con el ánimo de sugerir la dosis apropiada para futuras investigaciones en la especie que requieran de la aplicación de irradiaciones masivas. Este trabajo se desarrolló enmarcado dentro del semillero *Genética de la conservación* en la línea de *Mutagénesis y mejoramiento genético de plantas* del grupo de investigación en biología molecular (BIOMOL) de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

1. PLANTEAMIENTO

1.1 PROBLEMA

La debilidad de los tallos y ramas de la berenjena en época de cosecha se convierte en una limitante fisiológica de la producción determinada principalmente por el peso de los frutos. Esta condición está relacionada con la altura y los procesos de ramificación de la especie, los cuales le proveen un porte de hasta 2 metros. (Mármol, 1991). Sin embargo los agricultores recomiendan mantener por medio de tutorado la altura de la planta sobre 1,50 metros, para evitar que los tallos o ramas se quiebren. Partiendo de este problema se planteó el uso de radiaciones ionizantes con Co-60 sobre las semillas de los genotipos seleccionados, debido a la reconocida efectividad de este método en la inducción de mutaciones como la reducción de la altura y la obtención de plantas enanas (FAO, 2011).

El objetivo general fue determinar: ¿cuáles son los efectos morfológicos inducidos por la aplicación de radiación gamma en las semillas de berenjena?; para posteriormente seleccionar con una curva de dosimetría aquellos tratamientos que presenten respuesta positiva en la reducción de la altura de la planta y así recomendar un rango de dosis para su uso en irradiaciones masivas dentro de programas de mejoramiento de la especie.

1.2 JUSTIFICACIÓN

La berenjena (*Solanum melongena L.)* se ha convertido en un cultivo de importancia agronómica y económica. Aunque no es un producto de consumo habitual, se encuentra ampliamente distribuida en el país y se evidencia un consumo promedio interno, impulsado por los gustos de los consumidores hacia una dieta más sana y nutritiva. Se han descrito varios efectos potenciales en la salud debido a la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides de tipo antocianina, presentes en la cáscara del fruto, que le confieren su color característico y son muy efectivos para la eliminación de radicales libres; Por lo tanto, cuando es consumida los polifenoles contribuyen a reducir los radicales que están involucrados en patogénesis tales como la carcinogénesis o la arteriosclerosis (Blasco, 2009).

Cabe resaltar, que el consumo de berenjena en países como Estados Unidos ha tenido una tendencia al alza en las últimas cinco décadas. Esto ha propiciado que la demanda del producto en el mercado estadounidense registre un dinamismo importante al cual la producción interna no ha podido hacer frente, por lo que, para cubrir las necesidades se han incrementado sus compras externas. (López, 2013) Para Colombia esto se traduce en mejorar la calidad y rendimiento de las variedades criollas, esto como un objetivo imperante para lograr posicionarse en el mercado internacional, fortaleciendo un sector prometedor para la economía agrícola del caribe colombiano.

La mutagénesis como complemento de los programas de mejoramiento constituye una estrategia apropiada para la obtención de variedades tipo exportación, ya que las aplicaciones de rayos gamma han sido usadas ampliamente para desarrollar nuevas especies en el fitomejoramiento. Adicionalmente, como los rayos gamma no suponen una amenaza para la humanidad y el medio ambiente obteniendo buenos resultados, existe una fuerte consideración de que su aplicación debe ser preferida por las siguientes

razones: Como un método de apoyo para los métodos clásicos de mejoramiento, es seguro para los humanos y el medio ambiente, es aplicable para muchas especies de plantas, no necesita procesos después de su aplicación, como la desintoxicación de tejidos, se encuentra disponible para el uso combinado con otras técnicas de mutación y tecnologías modernas, tales como la propagación *in vitro*. Evidencias futuras formarán e iniciarán el desarrollo de grupos de especies de plantas, especialmente en los grupos en los que menos se ha trabajado. (Ulukapi, Gul. 2015)

Esta investigación se realizó con el ánimo de reportar los efectos morfológicos inducidos en semillas de berenjena (*Solanum melongena L.)* de las variedades CO015 y PH10 por la aplicación de un rango de dosis de radiación gamma mediante la evaluación respuestas de las plántulas a cinco variables: la altura, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, el largo y ancho de la lámina foliar durante los primeros 45 días de crecimiento.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes

Recientemente, la revolución verde, un término usado para describir los enormes aumentos en los rendimientos de grano de la década de 1960, fue posible gracias a la introgresión en el trigo y el arroz de alelos de genes mutantes que redujeron altura de la planta (y le confirieron ramas más rígidas, resistentes a la carga), estos se conocen como genes del enanismo. Se lograron rendimientos sin precedentes para las variedades estables enanas de trigo y esto marcó un momento decisivo de época en la investigación y el desarrollo agrícola internacional. La inducción de mutaciones en los cultivos, por tanto, representa un intento exitoso del hombre en la reproducción y la ampliación de la frecuencia de un fenómeno natural de modo que pueda ser explotado ventajosamente. Considerando las líneas productivas, los grupos con mayor número de mutantes son los cereales con un 48%, las flores con un 20%, leguminosas y verduras con 14%, y las plantas y árboles aceiteros con un 3% (Chikelu, 2013).

En Colombia, se han llevado a cabo estudios relacionados con el mejoramiento en la especie, desarrollados por CORPOICA y la Universidad de Córdoba, liderados por los investigadores Hermes Araméndiz, Miguel Espitia y Carlos Cardona; entre ellos se destacan: *Selección de cultivares competitivos de Berenjena para los mercados Nacionales y de Exportación, con adaptación a las condiciones del caribe Colombiano (2011),* trabajo en el cual se recolectaron, estudiaron y caracterizaron los genotipos utilizados por los campesinos de la región caribe; y se seleccionaron aquellos de mejor productividad y calidad de fruto, las densidades de población, la conservación del fruto de la berenjena y los retornos económicos de la inversión en investigación. Igualmente, después de superar las pruebas regionales de rendimiento y adaptabilidad, se seleccionaron dos genotipos para multiplicar y entregar la semilla a los productores: CO015 y CO029. Posteriormente en el estudio titulado *Parámetros genéticos en berenjena (2014)* los investigadores evaluaron ocho variables de importancia agronómica: rendimiento (REND), número de frutos por planta (NFP), peso promedio de fruto (PPF), firmeza del fruto (FF), longitud del fruto (LF), diámetro del fruto (DF), número de ramas por planta (NRP) y número de semillas por fruto (NSF); concluyendo que existe apreciable variabilidad genética la cual puede ser aprovechada a través de la selección y los programas de mejoramiento encaminados a superar los límites fisiológicos y lograr avances genéticos relevantes.

Por otra parte Aruna *et al. (2010)* en *Estudios de los efectos de los mutágenos físicos y químicos en los caracteres de las plántulas de berenjena*, comparó la efectividad de tres agentes mutagénicos: La radiación gamma, *etil metil sulfonato* y *dietil sulfato*, obteniendo como resultado que las radiaciones ionizantes son el mutágeno más efectivo para inducir mutaciones en las plántulas de berenjena. Más recientemente Ulukapi *et al.* En *Determinación de la dosis apropiada de radiación gamma en la inducción de mutaciones en Berenjena (Solanum melongena L.)* (2015) evaluó el efecto de cuatro tratamientos de irradiación gamma: 80, 120, 160 y 180 Gy, sobre los genotipos BR-12 y BR-16. Mediante la evaluación de las variables porcentaje de germinación, longitud del tallo, longitud del hipocótilo, peso seco y peso fresco de la planta y la raíz, longitud de la hoja y ancho de la

hoja; determinando que la dosis óptima para inducir mutaciones en el genotipo BR-12 corresponde a 160Gy mientras que para BR-16 concluye que es necesario llevar a cabo estudios con dosis más altas para obtener una reducción significativa del crecimiento vegetativo.

2.2 Berenjena

2.2.1 Generalidades

La berenjena es una fanerógama del tipo espermafita, subtipo angiosperma, clase Dicotiledónea, orden *Solanales*, perteneciente a la familia *Solanáceae*, subfamilia *Solanoideae*, tribu *Solanae* y al género *Solanum*. La especie *Solanum melongena* está dividida en tres variedades botánicas: Var. Esculentum (Dun), Var. Ovigerum (Dun) y Var. Insanum (Dun) (Mármol, 1991).

Es una especie diploide, con un número cromosómico de 2n=24. Presenta reproducción sexual prevalentemente autógama, con un valor de cruzamiento natural de 5-20%.

El complejo berenjena ha sido dividido en 8 grupos, identificados por una letra mayúscula de la A hasta la H, que corresponde a formas distintas. Dentro de los grupos D, E, F y G se encuentra la especie *Solanum melongena,* incluyendo la var. *Insanum*. (Blasco, 2009)

2.2.2 Morfología

La berenjena es una planta herbácea, aunque sus tallos presentan tejidos lignificados que le dan un aspecto arbustivo y anual, aunque puede rebrotar en un segundo año si se cuida y poda de forma adecuada, con el inconveniente que la producción se reduce y la calidad de los frutos es menor. (Mármol, 1991)

2.2.2.1 Raíz. La berenjena tiene un sistema radicular bastante desarrollado vertical y horizontalmente, pudiendo llegar hasta un metro de profundidad para buscar agua del suelo. En cultivos de invernadero y arenado se forma una cabellera muy amplia a poca profundidad; si el riego es localizado, el sistema radicular se potencia en la capa de tierra cercana a la arena. Esta propiedad puede ser aprovechada para cultivarla en suelos poco profundos mediante una buena preparación del terreno y técnicas de fertirrigación adecuadas (Mármol, 1991).

2.2.2.2 Tallo. En la berenjena los tallos son rígidos, erectos, ramificados, a veces espinosos, semileñosos y ligeramente vellosos. El crecimiento del tallo es indeterminado. Puede alcanzar altura de dos metros, ramificándose desde la base y tendiendo a esparcirse y ocupar gran espacio. Antes de su bifurcación, el tallo puede terminar lignificándose, de tal forma que si se corta por la cruz brotará de nuevo por la base del tallo a ras del suelo. Por otra parte, los tallos son frágiles y se quiebran con facilidad por el peso de hojas y frutos, por lo que es imprescindible un buen tutorado. En las plantas de porte bajo o rastrero el desarrollo es menor, característico de las variedades para cultivo al aire libre (Mármol, 1991).

2.2.2.3 Hojas. La berenjena tiene hojas muy desarrolladas, de largo y robusto peciolo, anchas, alternas, oblongas y recubiertas de vellosidad aterciopelada por el envés. La

hoja es lisa por el borde, ondeada y lobulada. Por sus nervios es pinnatinervia, apreciándose a lo largo de ellos y por el envés fuertes y cortos aguijones. El limbo puede alcanzar de 30 -35 cm de longitud y de 10-15 cm de anchura. Su color es verde por el haz y agrisado por el envés (Mármol, 1991).

2.2.2.4 Flores. Pueden ser solitarias o en racimos de 3 – 5 flores. Son frecuentes en variedades de invernadero los ramilletes de 3 flores, de la que una de ellas, hermafrodita y de pedúnculo propio y más corto que el de las otras dos, produce un fruto comercial. Las otras dos flores con pedúnculo común terminan por marchitarse o producir un fruto más pequeño (Mármol, 1991).
El cáliz, o verticilo más externo. Por tener los sépalos soldados al igual que los pétalos es gamosépalo, espinoso, hendido multifluido, persistente tras la fecundación y acrescente, rodeando al fruto. Su color es violáceo al principio y luego verde intenso. El pedúnculo es caulino. Los estambres poseen unas anteras muy desarrolladas de color amarillo intenso que quedan ligeramente por debajo del pistilo. Los estambres son de igual tamaño (homodínamos) y con las anteras en contacto (conniventes). Se encuentran soldados a la corola y visibles (flor fanerostémona) y miden alrededor de 1,5 cm de longitud.
El gineceo está formado por dos carpelos con un ovario bilocular, sincárpico y súpero; pudiéndose apreciar completamente en algunos casos el estigma, el estilo y el ovario. El estilo mide aproximadamente 1,2 cm (Mármol, 1991).

2.2.2.5 Fruto. Es una voluminosa baya carnosa con pula consistente y seca en la que se encuentran gran número de semillas. Su forma es muy variada, redonda, alargada, ovalada, apareada, etc. Con epicarpio liso y brillante; de color diverso, según variedades (Mármol, 1991), aquellos frutos de color lila, morado y negro son apreciadas y comúnmente las más cultivadas en invernadero. El fruto está rodeado por su extremo peduncular de un fuerte cáliz espinoso y acrescente. Su peso oscila de 200-300 gramos (Mármol, 1991).

2.2.2.6 Semillas. Son aplanadas, redondas o ligeramente arriñonadas, de color beige-amarillento y de 3-3,5mm de diámetro. Para su recolección se escogen los frutos sanos que representan fielmente la variedad, dejándolos en la planta hasta su completa madurez fisiológica. Una vez maduros, se extrae la pulpa, se separan las semillas y se dejan secar. El poder germinativo de la semilla varía de 5 a 6 años. Cada gramo contiene de 175-200 semillas (Mármol, 1991).

2.2.3 Características de las Variedades CO015 y PH10.

Las variedades utilizadas en el presente estudio provienen de genotipos traídos a Colombia por migrantes árabes e ibéricos hace décadas, sin experimentar procesos de transformación o mejoramiento genético, pues los agricultores han seleccionado y replicado las mejores características, conservando atributos ancestrales en sus líneas. La variedad CO015 es producto de una selección dirigida dentro del proyecto del Ministerio de Agricultura y desarrollo rural titulado: *"Selección de Cultivares Competitivos de Berenjena para los Mercados Nacionales y de exportación con adaptación a las condiciones del caribe colombiano";* En el cual, investigadores de CORPOICA y la Universidad de Córdoba realizaron la caracterización de productores y comercializadores de berenjena en la región caribe, incluyendo labores de recolección, estudio y evaluación de caracteres agronómicos en los cultivares de la zona, seleccionando para su

reproducción y distribución aquellos con mejores índices en productividad y calidad de fruto, densidad de población, caracteres favorables para la conservación del fruto y retornos económicos de la inversión en investigación. Dentro de éstos, CO015 destacó por sus atributos adaptativos, además de presentar rendimientos de campo superiores a 30 ton/ha en las zonas productoras de los departamentos de Córdoba, Sucre, Atlántico y Magdalena (**Figura 1a**, **anexos, 10.1**). La variedad PH10 (**Figura 1b**, **anexos, 10.1**) posee un rendimiento considerable como se aprecia en la **tabla 1**, el cual fue estimado junto a siete características agronómicas entre 36 selecciones individuales (incluyendo a CO015), cultivadas en el municipio de Sampués (Sucre), dentro del estudio titulado *Parámetros genéticos en berenjena,* cuyo objetivo fue apreciar la variabilidad genética aprovechable presentada entre las muestras colectadas de poblaciones de libre polinización en la zona y tres variedades comerciales (Araméndiz, Cardona & Correa, 2014)

Tabla 1. Valores promedio de características evaluadas en las variedades PH10 y CO015

Carácter/ Variedad	Rendimiento (t/Ha-1)	N° Frutos x planta	Peso promedio frutos (g)	Firmeza del fruto (Kgf/Cm2)	Longitud del fruto (Cm)	Diámetro del fruto (Cm)	N° Ramas x planta	N° semillas x fruto
PH10	56,85	19	340	11,32	20,12	6,65	7,18	603
CO015	55,47	23	257	7,38	19,66	6,18	6,85	663

Fuente: Araméndiz; Cardona; Correa, 2014. Parámetros genéticos en berenjena (Solanum melongena L.). Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 17(2): 361-369

2.3 Parámetros recomendados por la *International Atomic Energy Agency* (IAEA) para estimar el grado de daño a las plantas en la generación M1.

La mayoría de los efectos observados en la primera generación tratada son fisiológicos. Las lesiones presentadas en las plantas de la generación M1 son indicativo del grado de los efectos de los mutágenos en plantas y pueden ser determinados cuantitativamente en varias formas, como se aprecia en la **figura 2**, el daño físico se mide comúnmente usando parámetros como reducciones en la tasa de germinación de las semillas, las tasas de crecimiento en las plántulas, el vigor, la esterilidad e incluso letalidad en las plantas. Esto puede ser usado como patrón de sugerencia para determinar valores del umbral aplicable de las dosis del mutágeno empleadas en la inducción de mutaciones requeridas (FAO, 2011).

Figura 2. Parámetros usados para estimar el grado del daño a las plántulas en la generación M1.

Parámetros usados para estimar el grado de daño en la planta de la generación M1*
1. Altura de la plántula, determinada en una etapa particular justo después de la germinación. Normalmente llevado a cabo bajo condiciones controladas o en invernadero. 2. Longitud de la raíz, determinada después de la germinación bajo un ambiente de condiciones controladas o invernadero. 3. Emergencia bajo condiciones de campo, o germinación bajo condiciones controladas. 4. Sobrevivencia en condiciones de campo o bajo condiciones ambientales controladas.

5. Número de botones florales, flores o inflorescencias por planta. 6. Número de botones florales o partes florales por inflorescencia. 7. Número de la carga de semillas. 8. Frutos y semillas por plántula.
*Adaptado del Manual de mejoramiento por Mutaciones, Agencia internacional de energía atómica. Reporte técnico Serie No. 119

Fuente: FAO, 2011. *Plant mutation Breeding and Biotechnology*

2.4 Radiación ionizante

Este método utilizado con el fin de inducir cambios en el material genético de los tejidos expuestos a través de la energía proporcionada por un radionúclido, ha sido bastante efectivo en el fitomejoramiento durante las últimas décadas. De acuerdo con los postulados y estudios de Amano,(2004), se ha planteado que la radiación ionizante actúa en las bases nitrogenadas de las cadenas de ADN, ionizándolas; es decir, proporcionando una cantidad de energía que es absorbida por la biomasa, esto ocurre en particular durante la síntesis del ADN; si se produce la ionización de la base durante la síntesis, los pares de bases incompatibles pueden llegar a darse en la nueva macromolécula; como resultado, la secuencia de bases nitrogenadas de la cadena recién sintetizada se considera como un error, produciéndose en el ADN un cambio discreto, permanente y posiblemente hereditario; este cambio o mutación es similar al que se produce espontáneamente, con la diferencia que la radiación incrementa la periodicidad de su aparición; aparte de la mencionada ionización delas bases en el ADN, pueden ocurrir deleciones de bases (efectos que pueden cambiar las secuencias de bases críticas de la molécula); además, si una cantidad suficiente de ionización tiene lugar dentro de una o más bases, o si la interacción con los radicales libres es suficiente para alterar una o más bases que se eliminan de la molécula de ADN, se produce la eliminación de la molécula. Entonces, como lo expone Amano (2004), existen distintos tipos y fuentes de radiación aparte de la ultravioleta, como los rayos X y Gamma, las partículas Alfa y Beta, y los protones y neutrones; los cuales tienen en común la capacidad para formar unidades discretas de energía de ionización o de iones pares, a medida que pasan a través del material biológico.

2.4.1 Tratamientos de radiación.

De acuerdo con Amano y Medina (2004), existen varios métodos para el tratamiento de materiales biológicos con irradiación. Entre ellos se destacan el agudo, el crónico, y el recurrente. El tratamiento agudo se realiza en pocos minutos o unas pocas horas, dependiendo estos valores de tiempo del material que se vaya a irradiar; Por lo general, la dosis está en el nivel óptimo y se aplica sólo una vez; en los tratamientos crónicos, la radiación se aplica durante largos períodos de tiempo, la dosis es pequeña, fraccionada y distribuida en intervalos de minutos u horas, dependiendo igualmente del tipo de material. El tratamiento recurrente, por otra parte se aplica sobre materiales que hayan sido irradiados en la generación anterior.

De acuerdo con esto, Amano y Medina (2004), afirman que los efectos más positivos provienen principalmente de los tratamientos agudos; los beneficios derivados del uso de

un tratamiento recurrente, no parecen compensar la mano de obra extra y el tiempo en el manejo de materiales; entonces, cualquier parte de la planta se puede usar para el tratamiento mutagénico y las que generalmente se usan son las semillas, el polen, los esquejes, tubérculos, cormos, bulbos, estolones y células cultivadas, también tejidos y órganos e incluso la planta entera. La ventaja de utilizar semillas reside en la versatilidad para ser irradiadas, y que pueden ser desecadas, empapadas, calentadas o enfriadas sin presentar daños significativos, esto posibilita su mantenimiento durante largos períodos de tiempo.

2.4.2 Naturaleza de las mutaciones

Las mutaciones son cambios que se pueden dar de forma espontánea, o, como lo menciona Amano (2004), por la interacción con algunos factores externos como radiación, temperatura, productos químicos y la edad de las semillas; estos cambios pueden ser heredables o no, depende del origen de la mutación y el sitio donde se dé. Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas, de carácter somático o genético y cromosómico o extra cromosómico; ocurren con tasas variables, de acuerdo a los factores mencionados anteriormente.

2.4.2.1 Mutaciones espontáneas. Los mutantes espontáneos son tipos aberrantes que se encuentran en la naturaleza y por lo cual ninguna intervención deliberada del hombre ha engendrado los nuevos fenotipos. Algunos cambios permanentes y heredables han facilitado la domesticación de ciertas especias; la pérdida del sabor agrio y la toxicidad en la Berenjena es un claro ejemplo de mutaciones espontáneas en vegetales favorables para la agricultura. (Chikelu, 2013)

2.4.2.2 Mutaciones inducidas. Las mutaciones son inducidas en los cultivos a través de la exposición de sus propágulos a agentes mutagénicos físicos o químicos. Para los cultivos propagados por medio de semillas, estas pueden tratadas directamente con agentes mutagénicos, mientras que para las plantas propagadas por medio de cultivo de tejidos otras partes como meristemos apicales, tubérculos y cogollos pueden ser irradiados (Chikelu, 2013).

2.4.3 Efectos de la radiación ionizante en vegetales.

De acuerdo con Ukai, (1983), las mutaciones inducidas a las plantas a través de radiaciones ionizantes tienen como objetivo inducir mejoras fisiológicas en los vegetales trabajados, obteniendo así nuevas cepas, de una forma barata y rápida; ya qué, este proceso en la naturaleza tardaría millones de años. Se ha demostrado que la variabilidad genética para varios caracteres deseados se puede inducir con éxito a través de mutaciones y su valor práctico en programas de mejoramiento en plantas ha sido bien establecido. (Aruna J, 2010) los mutantes producidos de esta manera facilitan el aislamiento, identificación y clonación de genes utilizados en el diseño de los cultivos con un rendimiento mejorado y características de calidad (Ahloowalia and Maluzynski, 2001 en Aruna J, 2010).
Ukai (1983) ,propone que la mayoría de los tratamientos con radiaciones ionizantes se empleen para mejorar las propiedades físicas de las plantas, esto con el objetivo de fortalecer los vegetales ante diferentes condiciones adversas propiciadas por el cultivo, las plagas, el suelo y las condiciones climáticas.

Según lo trabajado por Mármol (1991), al desarrollar un porte bajo en la planta, tallos más gruesos al igual que ramas más resistentes, con frutos más grandes se constituyen en atributos deseables a la hora de inducir mutaciones en plantas de interés alimenticio; la mejora de estas características en la mayoría de los casos facilita la labor del agricultor y evita el gasto adicional en el tutorado y en pesticidas.

3. OBJETIVOS

3.1 General.

Evaluar los efectos morfológicos inducidos en las plántulas de *Solanum melongena L.* var. CO015 y PH10 por la aplicación de diferentes dosis de radiación gamma con Co-60 mediante el análisis y la evaluación de los cambios generados por cada tratamiento en una curva de radiosensitividad.

3.2 Específicos.

Comparar los efectos de las distintas dosis de radiación en las plántulas de berenjena durante el primer mes de crecimiento con base a las siguientes variables: la altura, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, largo y ancho de la lámina foliar.

Determinar la dosis que cause una reducción del 50% en el desarrollo vegetativo del material irradiado (LD50) para las variedades CO015 y PH10.

Determinar el rango de dosis que en función de la altura permita una reducción entre el 30% y el 50% (RD30 y RD50), del porte de las plantas de la M1 para las variedades CO015 y PH10.

4. MATERIALES Y MÈTODOS

4.1 Equipos.

Servicio de Unidad de irradiación fuente Cobalto 60 tipo C-188 del CNEA (INGEOMINAS)
Unidad Fitotrón laboratorios BIOMOL _ BINDER KBWF 720 (1)
Presoclave75 (Autoclave manual)
Refrigerador Haceb (BIOMOL)
Sistema automatizado de calefacción y riego para invernadero. (SITRAD)
Potenciómetro Accumet (1)
Cámara fotográfica digital 16 mpx (1) Nikon P510

4.2 Reactivos.

Fungicida BENLATE (Benomil)
Insecticida base acuosa Raid-MULTI Johnson. (360 ml)
Berbact.
Insecticida agrícola concentrado emulsionante Dominex º 10E.C
Hipoclorito de Sodio.
Etanol.
Agua destilada.

4.3 Vidriería.

Erlenmeyer de 500ml BRAND (2)
Vaso de precipitado de 50ml BRAND (2)
Balón aforado 1L (1)
Pipetas de vidrio 5ml (6)

4.4 Otros materiales.

Bandejas plásticas de 30. Cm x 27 cm. X 12.5 cm
Semillas de *Solanum melongena L.* variedad CO015 (2000)
Semillas de *Solanum melongena L.* variedad PH10 (2000)
Mezcla de tierra negra y cascarilla de arroz 4:1 (35 Kg)
Bolsas de plástico herméticas de 9x5cm (100)
Cinta métrica retráctil.
Regletas milimetradas.
Calibrador Pie de Rey (2)
Láminas de plástico de 30 cm x 6 cm (36)
Pinzas metálicas.
Lupa.
Matrices para el registro de los datos.

4.5 UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

4.5.1 Área de laboratorio.

Posterior a la irradiación de las semillas en el reactor de Ingeominas, se procedió a la realización de las pruebas pertinentes y el desarrollo del experimento bajo condiciones controladas en el laboratorio de biotecnología vegetal del grupo de investigación BIOMOL en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

4.5.2. Laboratorios Biomol, Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

Este espacio, correspondiente a la línea de investigación en mutagénesis y mejoramiento genético de plantas dentro del grupo de investigación en biología molecular BIOMOL, cuenta con las instalaciones, equipos y reactivos necesarios para llevar a cabo las pruebas de viabilidad y la estandarización de las condiciones para el crecimiento inicial de las plántulas irradiadas bajo condiciones controladas. Para ello se usó el fitotrón y el invernadero ubicado en la sede macarena B. Esto permitió ejercer control y protección en las condiciones ambientales del material vegetal a lo largo del desarrollo y la toma de datos.

4.6 METODOLOGÍA

4.6.1 Diseño Experimental.

En este caso, se manejó un diseño experimental completamente aleatorizado en arreglo factorial de 7x2 con tres repeticiones, por lo tanto la primera repetición fue sembrada de manera ascendente y las dos restantes de forma aleatorizada, permitiendo la toma de datos correspondientes por cada respuesta evaluada, con el fin de registrar y comparar los cambios, lo que permitió determinar si existen diferencias entre las variedades frente a los tratamientos, y entre estos. De acuerdo con lo anterior, las respuestas para cada variable se registraron en una matriz que permitió la organización inicial de los datos indicando a su vez la posición de cada plántula de acuerdo a la bandeja (repetición), el tratamiento (dosis) y el surco correspondiente.
Ahora bien, el diseño lineal para evaluar las hipótesis de varianza entre los efectos simples de los tratamientos y el efecto por genotipo se define de la siguiente manera:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \epsilon_{ijkl}$$

μ: Media general
j: 6 Dosis de radiación gamma: 100Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy y 600 Gy.
k: 2 Tipos de semilla: CO015 y PH10
αj: Efecto del j-ésimo tratamiento de radiación gamma.
βk: Efecto del control e irradiado.
(αβγ)jkl: Efecto de la interacción.
Єijkl: Error experimental.

De este modo, se evaluaron las hipótesis para relacionar el efecto de los tratamientos sobre las variables:

Ho: μ1= μ2 = μ3 = μ4…= μ_k … No existe diferencia entre los efectos de los tratamientos
H_1: *μ1≠ μ2≠μ3≠ μ4…≠*μ_k… Existe diferencia entre los efectos de los tratamientos

Debido a que se trabajó con plantas de *Solanum melongena L.* se tomaron todas las unidades experimentales como homogéneas, sin embargo, al estudiar dos variedades distintas se evaluó si existían diferencias significativas entre ellas para cada variable de respuesta. Así pues, considerando lo anterior se plantearon las hipótesis de respuesta por variedad:

Ho: No existe diferencia significativa entre la respuesta de los genotipos frente a un tratamiento.
H_1: Existe diferencia significativa entre la respuesta de los genotipos frente a un tratamiento.

4.6.2 Irradiación de semillas.

Teniendo en cuenta que las semillas fueron agrupadas por variedad, en conjuntos de 100 unidades, como se aprecia en la **Figura 3**, cada uno fue rotulado indicando la variedad, repetición y el tratamiento a ser aplicado por el servicio de unidad de irradiación fuente Cobalto 60 tipo C-188 del CNEA (INGEOMINAS) comprendiendo dosis agudas entre los 100Gy y 600Gy. La aleatorización del experimento se realizó antes de la siembra para garantizar el cumplimiento del modelo propuesto.

Figura 3. Grupos de 100 semillas separadas por variedad, preparadas para su tratamiento.

4.6.3 Establecimiento de las condiciones óptimas en laboratorio para la toma de medidas en las plántulas.

Fue necesario establecer un método que favoreciera la germinación óptima en condiciones homogéneas para todas las unidades experimentales; en este caso se creó un programa en el fitotrón BINDER KBWF 720 , con el ánimo de controlar las condiciones de Luminosidad (14 horas luz/10 horas sombra), Temperatura promedio (25ºc en el día,

20ºc en la noche), humedad relativa (50% durante el día, 40% en la noche) y riego (420 ml por surco de 10 plántulas una vez por día, intercalado). De acuerdo con lo anterior, se usaron bandejas plásticas de 30 cm x 27 cm X 12.5 cm llenas de sustrato nutritivo (tierra negra con cascarilla de arroz), de manera que se ocupara el área interior de la bandeja, proporcionando un horizonte de suelo adecuado para el desarrollo radicular en las plántulas. Se implementaron divisiones a manera de surcos como lo detalla la **Figura 4**, esto con el fin de distribuir las semillas uniformemente, induciendo el proceso de germinación y proporcionando todos los factores necesarios para que este fuese exitoso , permitiendo la toma de las medidas por cada variable sin causar estrés ni daño mecánico en las plántulas. Cabe aclarar que, se tuvieron 70 unidades por bandeja, y a su vez tres repeticiones por cada tratamiento por variedad, para un total de 420 unidades experimentales.

Figura 4. Montaje para la distribución y diferenciación de las plántulas

4.6.4 Medición de las variables a estimar de acuerdo a los cambios morfológicos inducidos.

Para evaluar el efecto de cada tratamiento, así como la respuesta por variedad, se consignaron los datos correspondientes a la altura de las plántulas, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, Y las medidas del largo y ancho de la lámina foliar durante el primer mes de crecimiento. La altura fue registrada a los 19 días, cuando finalizó el desarrollo de la primera hoja verdadera. El porcentaje de germinación fue estimado a los 21 días, cuando los controles presentaron su valor máximo. El porcentaje de emergencia fue registrado a los 14 días, cuando los controles presentaron su valor máximo y finalmente, las medidas del ancho y largo de la lámina foliar se consignaron a los 45 días después de la siembra, al marchitarse las hojas cotiledonares. Las medidas se registraron y verificaron haciendo uso del calibrador pie de rey y una regleta con cinta milimétrica para obtener registros con la mayor precisión posible.

4.6.5 Registro y clasificación de las respuestas obtenidas mediante comparación con los parámetros recomendados por la *International Atomic Energy Agency* (IAEA) para estimar el grado de daño a las plantas en la generación M1, y los descriptores morfológicos para berenjena del IBPGR.

Esta información constituyó una guía para la evaluación y comparación de las variaciones morfológicas frente a la posible incidencia de las condiciones y el tiempo de almacenamiento posterior al tratamiento de las semillas. De manera que, facilitaron la verificación de la viabilidad de los materiales durante el periodo de realización de los ensayos, así como la categorización de plántulas normales y anormales. Esto permitió dilucidar aquellas dosis que se podrían considerar recomendables para su posterior uso, así como el reporte de los efectos negativos o no deseables. Los parámetros de estimación de daños recomendados por la IAEA, sugieren tomar como variables de referencia: en primer lugar, la altura de las plántulas determinada bajo un ambiente controlado, en una etapa particular poco después de la germinación. En segundo lugar la longitud de raíz, determinada poco después de la germinación en condiciones controladas o en invernadero. En tercer lugar, la emergencia bajo condiciones de campo, o la germinación en condiciones controladas. En cuarto lugar, La supervivencia bajo condiciones de campo o de ambiente controlado. En quinto lugar el número de botones, flores e inflorescencias por planta. En sexto lugar, el número de botones o partes florales por inflorescencia, seguido del número de la muestra de semillas, y por último el número de Frutos y/ o semillas por planta. (FAO, 2011)
Los descriptores para berenjena desarrollados por el *International Board For Plant Genetic Resources* (IBPGR, 1990) sugieren un formato estándar internacional de caracterización morfológica para *Solanum melongena L.* de acuerdo a los rasgos y características determinantes, así como una recopilación de sus variaciones, siendo útiles como referencia a la hora de clasificar y comparar los testigos con las respuestas generadas por cada tratamiento.

5. RESULTADOS

Se realizó un análisis de varianza ANOVA y una prueba HSD de Tukey (α: 0,05) para todas las variables evaluadas: la altura, el porcentaje de germinación, el porcentaje de emergencia, el largo y ancho de la lámina foliar durante el primer mes de crecimiento **(ver anexos, 10.2 Tablas de análisis de varianza)** donde se evidenció que para el porcentaje de emergencia no hubo efectos significativos entre genotipos, ni entre dosis **(Tabla 4, anexos, 10.2.3).** De manera complementaria, se analizó el vigor o índice de velocidad de germinación **(Gráfico 1, anexos, 10.3.1)** representado en el número de plántulas por día durante los conteos para cada tratamiento, y el número medio de días para la germinación **(Gráfico 2, anexos, 10.3.2)** evidenciando los efectos de las dosis respecto a su incremento. Además se realizó un ajuste de la altura al modelo lineal, obteniendo la ecuación y la gráfica de la regresión, que permiten predecir la reducción deseada en función del tratamiento aplicado **(Figura 7)**. Finalmente, se llevó a cabo un análisis multivariado con el propósito de evaluar los niveles de correlación entre variables **(Tabla 7, anexos, 10.2.6)**, encontrando valores positivos entre la altura y las medidas de la lámina foliar. Para todos los análisis se utilizó la versión de prueba del programa *Statgraphics Centurion.*

5.1 Altura de plántulas a los 19 días

Se indujo el crecimiento bajo condiciones controladas y se registraron las medidas para la altura de las plántulas a los 19 días después de la emergencia, ya que para ese día se completó el desarrollo de la primera hoja verdadera en los controles.
No se encontraron diferencias significativas entre los genotipos para la variable altura (P=0,1050) **(Figura 5)**. Por otra parte se concluyó que los tratamientos tienen un efecto altamente significativo sobre la altura (P=0,0000) con un 95,0% de nivel de confianza **(Figura 6)**.

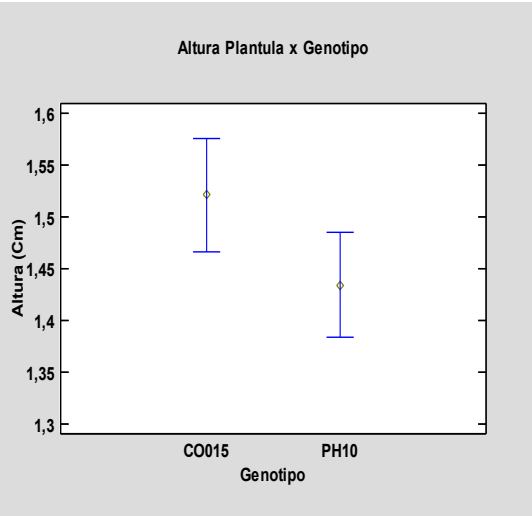


Figura 5: Gráfica de medias de la Altura en función de las variedades.

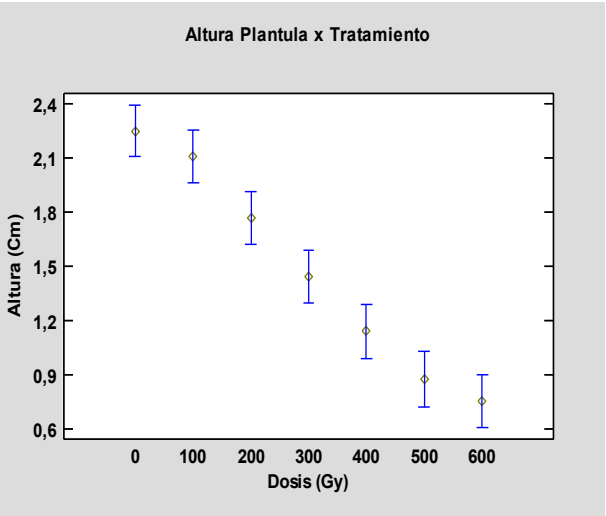


Figura 6: Gráfica de medias de la altura en función de los tratamientos.

5.2 Modelo ajustado de regresión simple para altura.

Se utilizó un modelo lineal de la forma Y = a + b*X, en donde la altura fue la variable dependiente y los tratamientos la variable independiente. Existe una relación estadísticamente significativa (P=0,0000) entre la respuesta altura y los tratamientos. El coeficiente de correlación es igual a 0,823495, lo que indica una relación fuerte entre las variables. Se excluyeron los residuos atípicos con el ánimo de minimizar la suma de los cuadrados de las diferencias entre el valor real de cada respuesta obtenida con el valor que predice la recta. De acuerdo con Kodym en (FAO, 2011) las dosis que logran una reducción de la altura entre el 30% y 50%, con comportamiento estable (RD30 y RD50), son las más efectivas en la inducción de mutaciones, por lo tanto son importantes en los estudios de fitomejoramiento. En este caso el rango de dosis que permitió la reducción del porte de la planta entre un 30% y 50% está entre los 280 Gy y los 370 Gy respectivamente. Como se aprecia en la **Figura 7**, la dosis que causo el 50% de reducción de las plántulas viables (LD50) se registró sobre los 400 Gy.

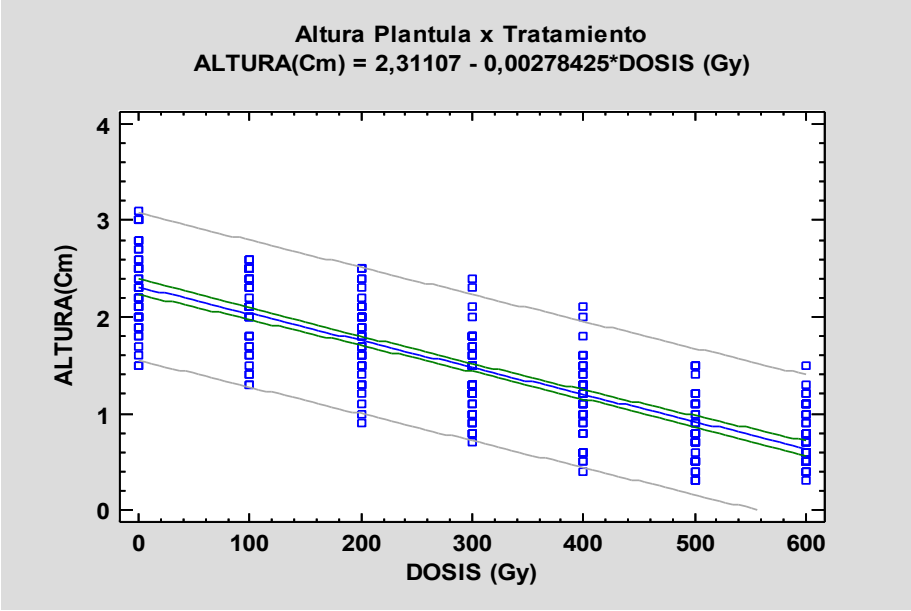


Figura 7. Modelo ajustado a la regresión lineal simple.

La relación entre la altura y los tratamientos está definida por la siguiente ecuación, la cual se ajusta al modelo lineal:

Altura (Cm) = 2,31107 - 0,00278425*Dosis (Gy)

Esta ecuación nos permite predecir la reducción de la altura en función de la dosis aplicada en semillas de *Solanum melongena L*. variedades CO015 y PH10.

5.3 Porcentaje de germinación a los 21 días.

La germinación puede definirse como la activación del crecimiento del embrión, con el avistamiento o protrusión de la radícula de las estructuras protectoras al menos 2mm (Rao et al, 2006 en FAO, 2011). En este caso, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los porcentajes de germinación para los genotipos (P=0,2945) con un nivel de confianza de un 95%, al contabilizar únicamente las plántulas normales 21 días después de la siembra **(Figura 8).** Mientras que los tratamientos tuvieron un efecto estadísticamente significativo en el porcentaje de germinación de las variedades, (P=0,0000) con un nivel de confianza de un 95% **(Figura 9).**

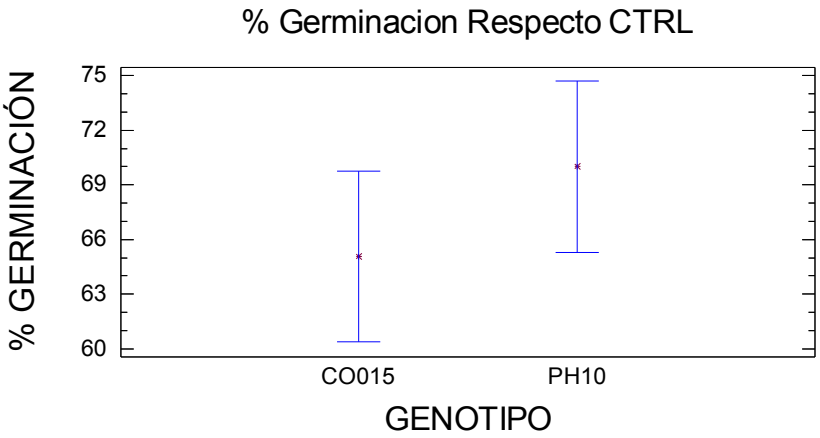


Figura 8. Gráfica de medias % de germinación en función de las variedades.

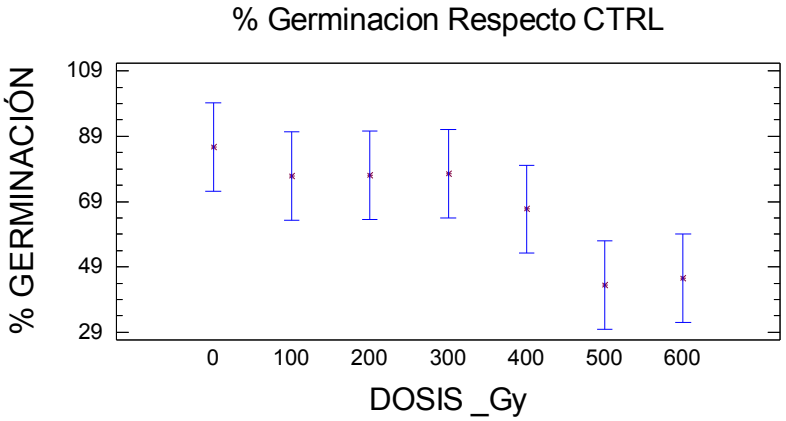


Figura 9. Gráfica de medias % de germinación en función de los tratamientos.

5.4 Porcentaje de emergencia a los 14 días.

En este caso, como se puede observar en la **Figura 10** ni los genotipos (P=0,1047)**,** ni los tratamientos (P=0,7828) presentaron efectos estadísticamente significativos en el porcentaje de emergencia **(Figura 11),** al contabilizar el total de plántulas normales y anormales emergidas 14 días después de la siembra. Si bien la mayoría de las plántulas emergió en todos los tratamientos, la diferencia más notable entre estos es el número medio de días para la germinación; mostrando una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis y la cantidad de días necesarios para germinar **(ver anexos, 10.3.2 Gráfico 2)**

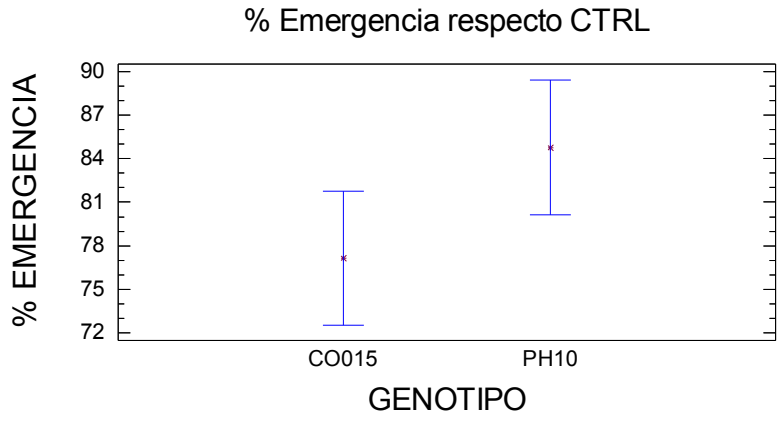


Figura 10. Evaluación del % de emergencia en función de las variedades.

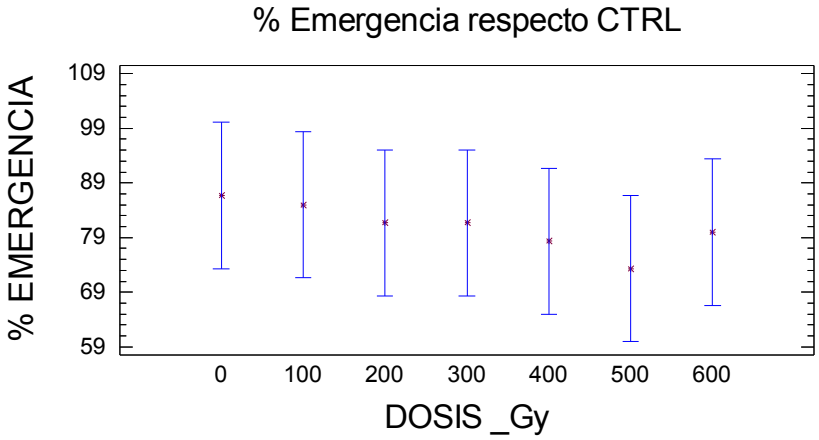


Figura 11. Evaluación del % de emergencia en función de los tratamientos.

5.5 Largo de la lámina foliar a los 45 días.

En este caso, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los valores del largo de la lámina foliar entre los genotipos (P=0,7774) con un nivel de confianza de un 95% (**Figura 12).** Mientras que los tratamientos presentaron un efecto estadísticamente significativo (P=0,0000) en el largo de la lámina foliar de las variedades con significancia de un 95%. Como se aprecia **Figura 13**, la RD50 corresponde a 400Gy; evidenciando también que las medias de las dosis más altas (500 Gy & 600Gy), tienden a agruparse mostrando que existen comportamientos similares frente al largo de las hojas.

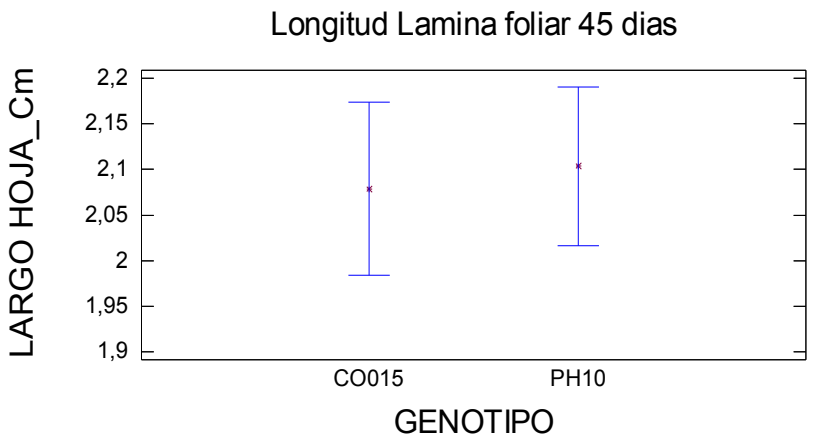


Figura 12. Gráfico de medias del largo de la hoja en función de las variedades.

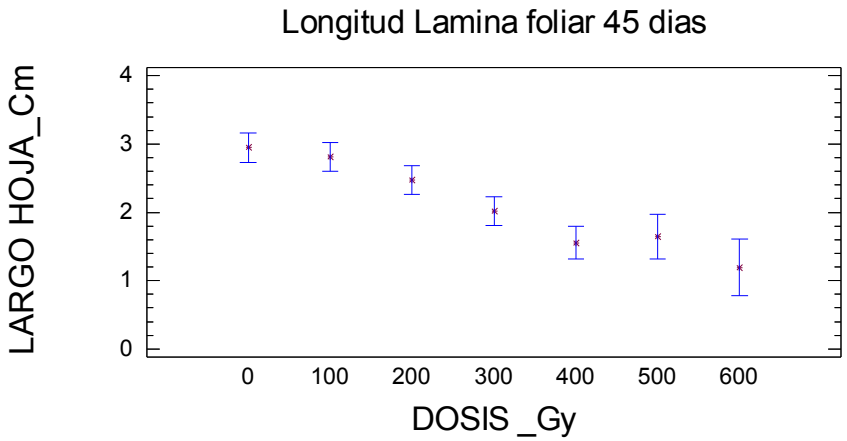


Figura 13. Gráfico de medias largo de la hoja en función de los tratamientos.

5.6 Ancho de la lámina foliar a los 45 días.

Para esta respuesta no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los valores del ancho de la lámina foliar entre los genotipos (P=0,2239) con un nivel de confianza de un 95% (**Figura 14)**. Mientras que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo en el ancho de la lámina foliar de las variedades (P=0,0000) con significancia de un 95%. Como se puede apreciar en la **Figura 15,** la RD50 corresponde a 400Gy; resaltando que las medias de las dosis de 400 Gy y 500Gy tienden a agruparse mostrando que sus efectos sobre el largo de las hojas son similares entre sí, pero difieren de los efectos causados por la dosis máxima de 600Gy.

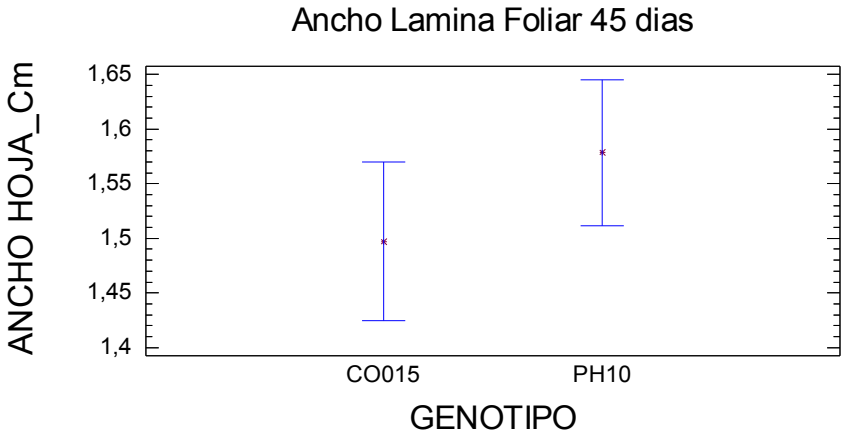


Figura 14. Gráfico de medias del ancho de la hoja en función de las variedades.

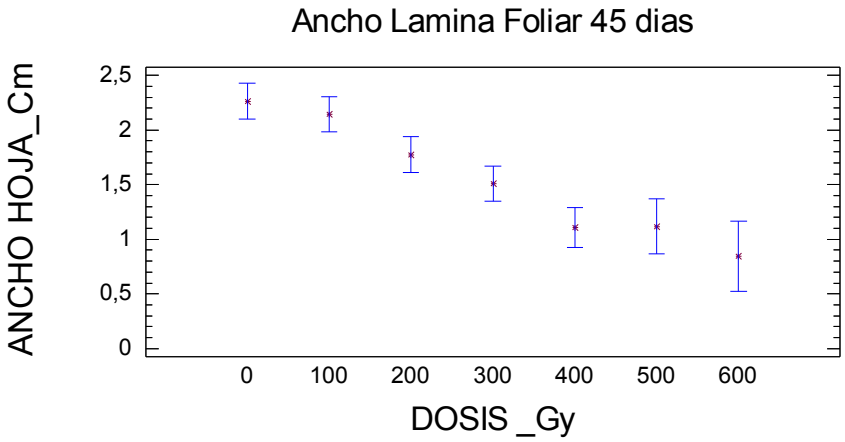
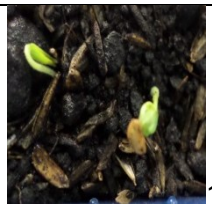
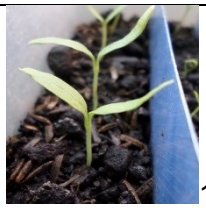


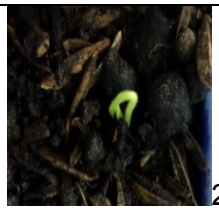
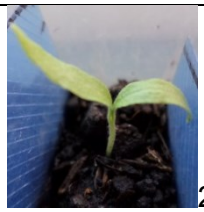
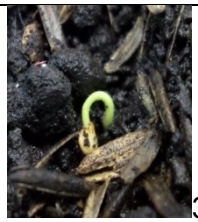
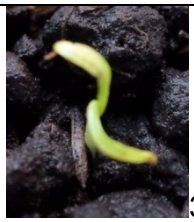
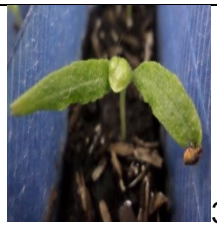
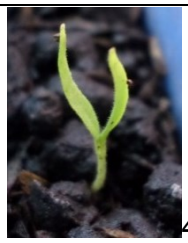
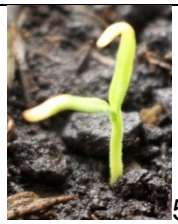
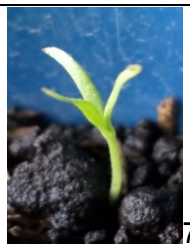
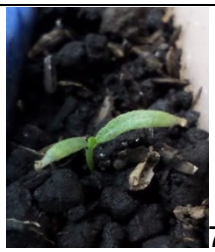
Figura 15. Gráfico de medias del ancho de la hoja en función de los tratamientos.

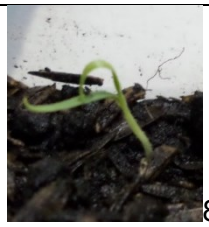
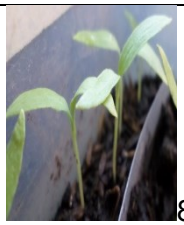
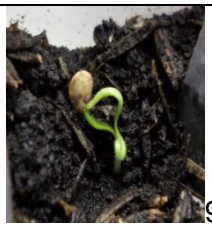
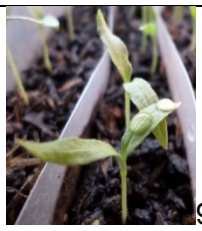
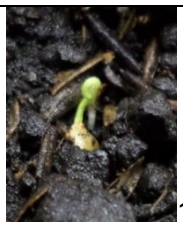
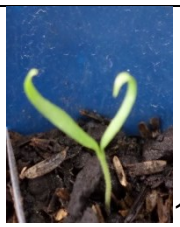
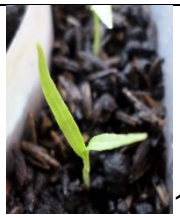
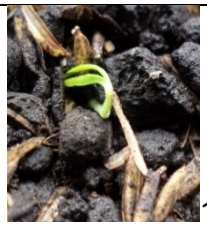
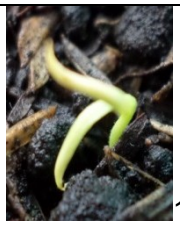
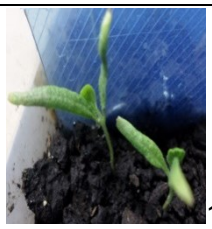
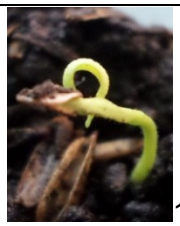
5.7 Efectos morfológicos inducidos por las dosis de radiación gamma.

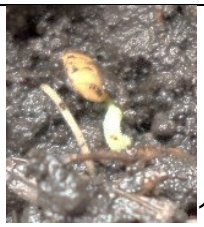
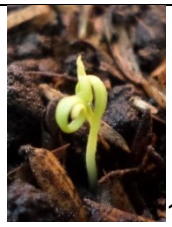
A continuación, se exponen algunos de los efectos morfológicos inducidos en las plántulas por la exposición de las semillas a distintas dosis de radiación gamma visibles a los 7, 14 y 21 días después de la siembra (**Tabla 8.1 y 8.2.**). Entre las alteraciones principales encontramos para las dosis entre 100 y 400Gy disminución del crecimiento, malformaciones en la hoja, enroscamiento **(Tabla 8.1, 10b)**, algunas quimeras (**Tabla 8.2**), desarrollo anormal de estructuras (**Tabla 8.1, 2C, Tabla 8.2**), ausencia de la diferenciación y división completa de hojas, sin presentar letalidad o caída drástica en las tasas de germinación y emergencia, mientras que en las dosis de 500 y 600 Gy se presentó una afectación notable en la viabilidad y el desarrollo de las plántulas, reflejada en un menor tamaño, un desarrollo lento y en algunos casos incompleto **(Tabla 8.1, 14b, Tabla 8.2)**, así como la necrosis en hojas cotiledonares, hojas verdaderas y radícula, acompañados del desarrollo anormal en las estructuras **(Tabla 8.1, 7b, 3b, 6c)**. De acuerdo con Kodym et al, *en* FAO, (2011) se obtuvo una reducción del crecimiento de las plantas con el aumento de la dosis de radiación gamma, pero se evidenció también que, a pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre el comportamiento de las variedades frente a las variables evaluadas, cada genotipo y cada planta responden de manera distinta a la radiación. Según la FAO, (2011) Estas diferencias se ven directamente influenciadas por factores de modificación biológicos, genéticos, fisiológicos, morfológicos y ontológicos, que se combinan con los factores medioambientales (como el oxígeno, la temperatura y el contenido de agua) para marcar influencias sobre la respuesta de las semillas a la exposición, así se trate de dosis iguales aplicadas en una misma población y sembradas bajo las mismas condiciones, como en el caso de este estudio.

Tabla 8.1 Cambios morfológicos inducidos por los tratamientos en las variedades a los 7,14 y 21 días

Variedad	Tratamiento (Dosis)	7 Días	14 Días	21 Días
CO015	**1 (0 Gy)**	 1a	 1b	1c

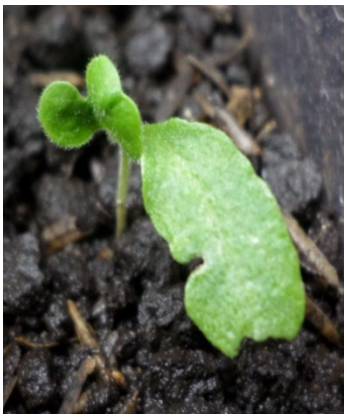
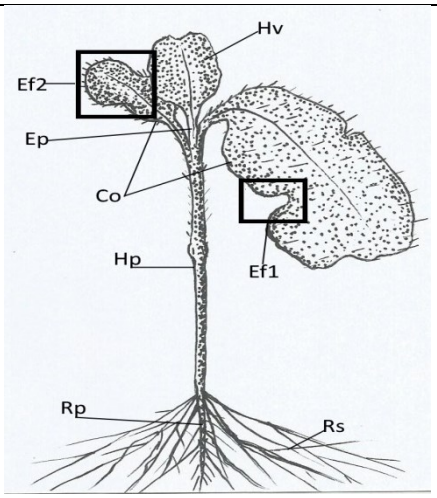
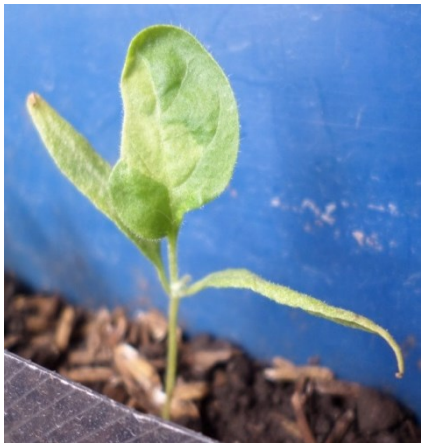
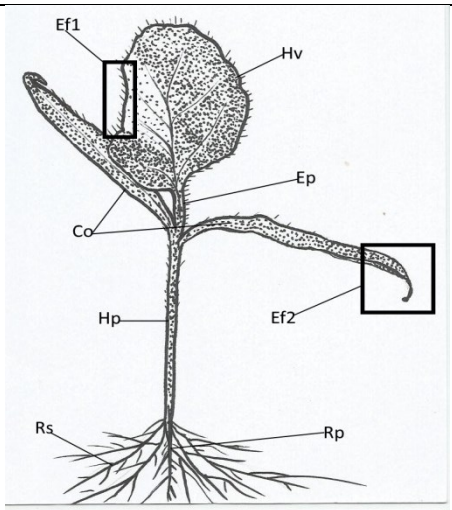
CO015	**2 (100Gy)**	 2a	 2b	2c
CO015	**3 (200Gy)**	 3 a	 3b	 3c
CO015	**4 (300Gy)**	4 a	 4b	4c
CO015	**5 (400Gy)**	5 a	 5b	5c
CO015	**6 (500Gy)**	No germinó	6b	6c
CO015	**7 (600Gy)**	No germinó	 7b	 7c

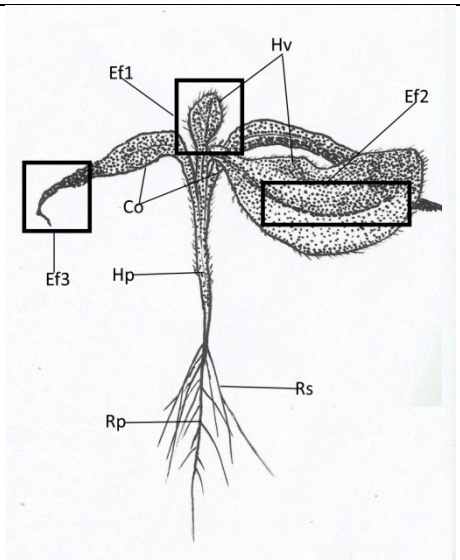
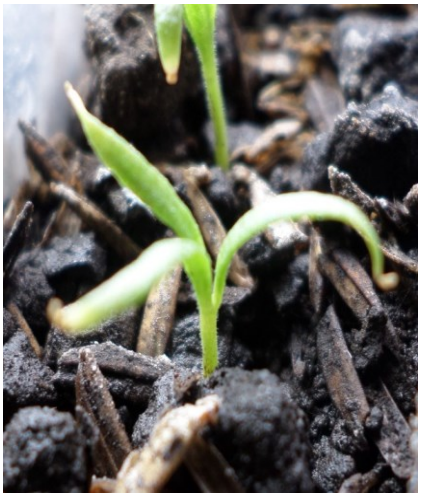
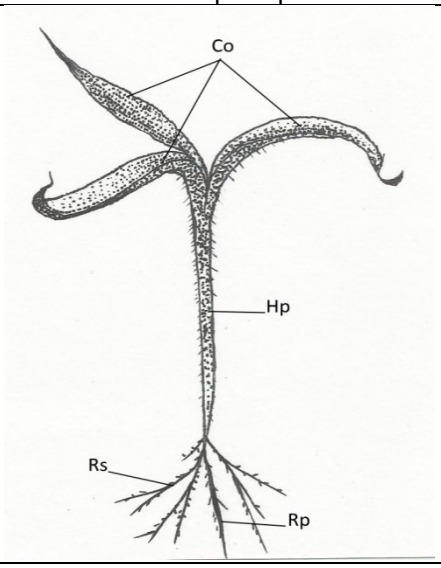
PH10	**8** **Control**	 8 a	 8b	8c
PH10	**9** **(100Gy)**	 9 a	 9b	9c
PH10	**10** **(200Gy)**	 10 a	 10b	10c
PH10	**11** **(300Gy)**	11a	 11b	11c
PH10	**12** **(400Gy)**	 12a	 12b	 12c
PH10	**13** **(500Gy)**	13a	 13b	13c

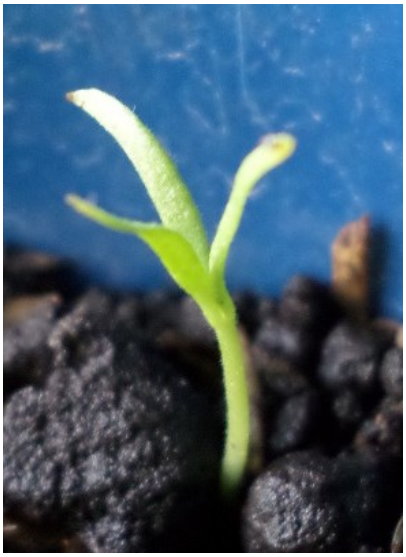
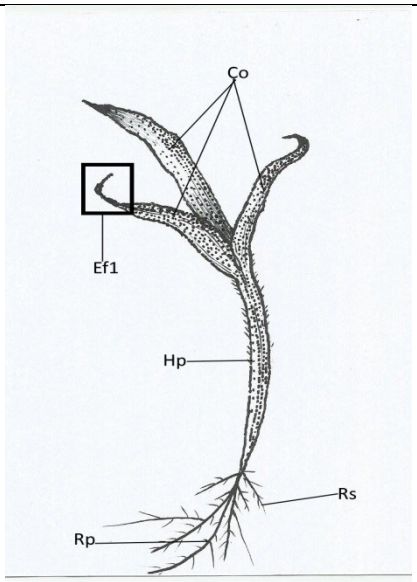
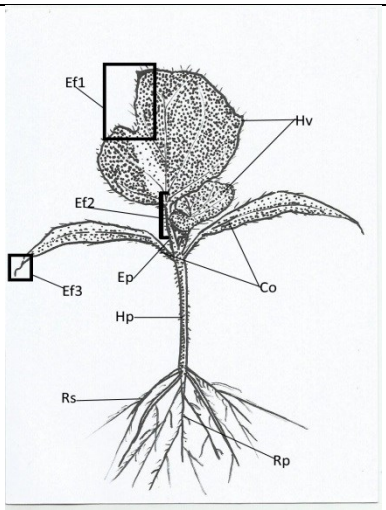
PH10	**14** **(600Gy)**	 14a	 14b	14c

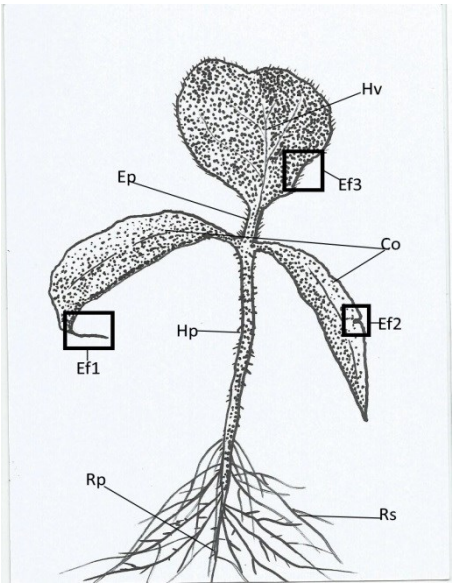
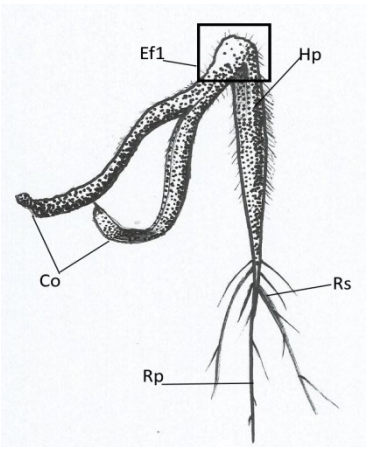
5.7.1 Descripción de los efectos inducidos

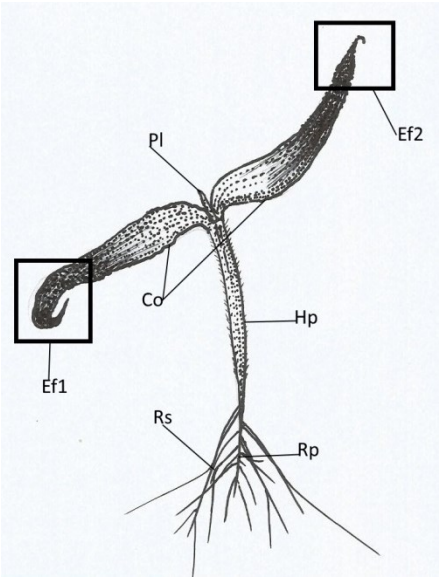
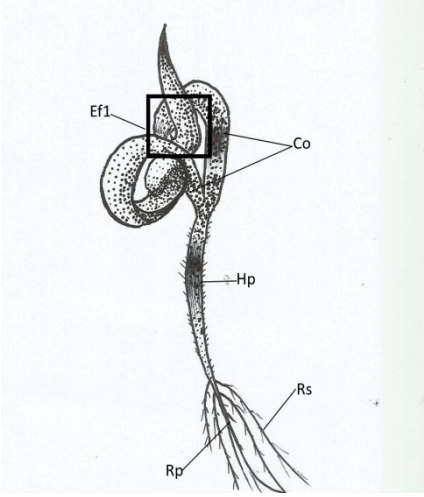
Tabla 8.2 Descripción de los cambios presentados por los efectos inducidos.

Variedad/ Dosis	Fotografía	Ilustración
CO015 **100Gy** **21 Días**		
Descripción botánica	**CO015/100Gy:** Malformaciones en el desarrollo de las hojas cotiledonares de *Solanum melongena.* Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Ep, Epicótilo; Hv, Hoja verdadera; Ef1-Ef2, efecto de la radiación: malformación del borde de las hojas cotiledonares.	
CO015 **300 Gy** **21 Días**		
Descripción	**CO015/300Gy:** Malformaciones de la primera hoja verdadera. Co, Cotiledón; Hp,	

botánica	Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Ep, Epicótilo; Hv, Hoja verdadera; Ef1, Efecto de la radiación: Malformación en el borde de la hoja verdadera, Ef2, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares.	
CO015 500 Gy 21 Días		
Descripción botánica	**CO015/500 Gy:** Desarrollo atípico de la primera hoja verdadera. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Hv, Hoja verdadera; Ef1, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares - Ef2, efectos de la radiación: Malformación de la hoja verdadera, curvatura de la nervadura principal.	
CO015 600 Gy 21 Días		
Descripción botánica	**CO015/600 Gy:** Desarrollo de tres hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria.	

CO015 600 Gy 12 Días		
Descripción botánica	**CO015/600 Gy:** Desarrollo de tres hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria. Ef1, Efecto de la radiación: Rizado de hojas cotiledonares.	
PH10 300Gy 41Días		
Descripción botánica	**PH10/300Gy:** Malformación de las hojas verdadera y rizado de las hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Ep, Epicótilo; Hv, Hoja verdadera; Ef1, Efecto de la radiación: Malformación en el borde de la hoja verdadera; Ef2, Efecto de la radiación: reducción del área foliar; Ef3, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares.	

PH10 400Gy 21 Días		
Descripción botánica	**PH10/400Gy:** Malformación de las hoja verdadera y de las hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Ep, Epicótilo; Hv, Hoja verdadera; Ef1, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares; Ef2, Efecto de la radiación: Malformación en la hoja cotiledonar; Ef3, Efecto de la radiación: Malformación en el borde de la hoja verdadera.	
PH10 400Gy 7 Días		
Descripción botánica	**PH10/400Gy:** Malformación de las hojas cotiledonares y el hipocótilo. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Ef1, Efecto de la radiación: malformación del hipocótilo, presenta una desviación de 90 °.	

PH10 600Gy 21 Días		
Descripción botánica	**PH10/600Gy:** Retraso en el desarrollo de la hoja verdadera, malformaciones en las hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Pl, Plúmula; Ef1, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares; Ef2, efecto de la radiación: Necrosis del tejido vegetal.	
PH10 600Gy 12 Días		
Descripción botánica	**PH10/600Gy:** Malformaciones en las hojas cotiledonares. Co, Cotiledón; Hp, Hipocótilo; Rp, Raíz principal; Rs, Raíz secundaria; Pl, Plúmula; Ef1, Efecto de la radiación: rizado de las hojas cotiledonares, deformación de la totalidad de la hoja, necrosis en los ápices de las hojas cotiledonares.	

6. DISCUSIÓN

Se evidenció un efecto estadísticamente significativo de los tratamientos sobre las variables evaluadas, a excepción del porcentaje de emergencia, donde no se encontraron incidencias a nivel de genotipos ni de dosis. Coincidiendo con lo reportado por Aruna (2010) se evidencia una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis y el incremento del número de días para la germinación (**Ver anexos, 10.3.2, gráfico 2**).

Siguiendo las recomendaciones de Ulukapi (2015) en el presente estudio se probaron dosis por encima de 240 Gy, estableciendo un rango de dosis recomendable para producir mutantes viables con una reducción del porte entre el 30% y el 50% en las variedades CO015 y PH10, entre los 270 y 380 Gy. A diferencia de Aruna y Prakash (2010), en cuyo estudio reportaron 100% de reducción en la germinación con dosis de 180 y 200 Gy en cinco genotipos, en las variedades CO015 Y PH10 decreció hasta un 65% sin ser completamente letales las dosis de 500 y 600 Gy, lo que sugiere un mayor grado de resistencia de los materiales evaluados.

Dado que el coeficiente de correlación entre la altura (cm) y la dosis (Gy) obtenido a partir del ajuste al modelo lineal tiene un valor significativo de 82,34% existe una fuerte relación entre la expresión de esta variable y las demás variaciones fisiológicas presentadas producto de los tratamientos. (**Ver Anexos**, **10.2.6**, **Tabla 7**)

De acuerdo a las recomendaciones de la FAO (2011), las medidas de la altura se tomaron cuando las primeras hojas verdaderas en el control dejaron de crecer, ya que no es posible distinguir entre el retraso en la germinación y la reducción en la altura de las plántulas en las primeras fases del crecimiento temprano, es decir, que con el transcurrir del tiempo se pueden apreciar efectos tardíos pero más reales.

Para el ajuste de las respuestas de altura al modelo lineal, fue necesario suprimir algunos datos atípicos obtenidos, considerando que la exposición a dosis bajas puede ocasionar que las alturas de estos materiales excedan los valores de los controles. (FAO, 2011)

Se observaron distintas anomalías en el desarrollo normal de las regiones cotiledonares y ápices, esto puede deberse a que la región del hipocótilo es relativamente insensible a la radiación, porque el crecimiento en esta región está determinado principalmente por la elongación celular en vez de la división, mientras que el epicótilo exhibe una mayor actividad mitótica, siendo un mejor referente para apreciar los efectos mutagénicos (FAO, 2011).

Debido al empleo de radiación ionizante, se producen especies destructivas de oxígeno como los radicales libres y peróxidos que dañan los componentes de la célula, incluyendo proteínas, lípidos, ARN y ADN. Este proceso se denomina estrés oxidativo (Evans y Cooke, 2004) y sus efectos dependen de la magnitud de la radiación y la capacidad celular de recuperación. Con niveles de exposición moderados, se desencadena la apoptosis causando muerte celular en algunas partes de la plántula, lo cual puede ser recompensado por las células recuperándose, mientras que en las dosis más altas

(500Gy y 600Gy) se observan lesiones tisulares agudas con respuesta inflamatoria y muerte celular masiva, reflejado en la necrosis de los tejidos (FAO,2011).

Además de lograr determinar o conocer el umbral de aplicaciones gamma para estas variedades de manera empírica, se evidenció que naturalmente existen limitaciones inherentes a la cantidad de lesiones o cambios inducidos que las plantas pueden tolerar, pues la combinación del daño biológico y genético puede dar origen a la letalidad, como se apreció en las dosis altas, porque aunque no hubo una pérdida completa en las tasas de germinación y emergencia, las plántulas provenientes de estas semillas retardaron excesivamente su crecimiento, fueron incapaces de desarrollarse y la mayoría murieron poco después de haber germinado o emergido. (FAO, 2011)

7. CONCLUSIONES

- De acuerdo a las variables evaluadas, se concluye que la altura resulta determinante como indicador de la respuesta del material a los tratamientos, ya que sus respuestas demuestran una fuerte relación con las dosis del mutágeno, y al estar determinada por la división y extensión celular permite apreciar fácilmente los efectos de los tratamientos.

- La ecuación que define la relación existente entre la altura de las plántulas sometidas a los tratamientos, se ajusta al modelo lineal de la forma: Altura (Cm) = 2,31107 - 0,00278425*Dosis (Gy), lo cual permite predecir la dosis aplicable tomando como referencia la altura deseada. La dosis que causa una reducción del 50% en el desarrollo vegetativo (LD50) para las variedades CO015 y PH10 se reporta en 400Gy.

- La altura máxima alcanzada por los controles al momento de finalizar el desarrollo de la primera hoja verdadera (19 días) fue de 2,24 cm aproximadamente, de manera que el rango de dosis que produjo una reducción entre el 30% y el 50% de crecimiento del material vegetal, manteniendo sobrevivencia para las variedades CO015 y PH10 corresponde a 270Gy y 380 Gy para la RD30 y RD50 respectivamente.

- En ausencia de datos detallados acerca de la radiosensitividad de las variedades CO015 y PH10, fue necesaria la estimación de la DL50, la RD30 y la RD50 en la población M1, a través de una prueba a pequeña escala en condiciones controladas, con el fin de determinar las dosis adecuadas para su futura aplicación en ensayos a mayor escala, y en condiciones de campo.

8. RECOMENDACIONES

- Es necesario profundizar acerca de los genes candidatos para la regulación de la altura, y su correlación con rutas metabólicas o procesos fisiológicos que puedan afectar de alguna manera el número de frutos por planta o el tamaño de estos, ya que dichos caracteres constituyen un límite fisiológico en el mejoramiento de la especie.(Araméndiz, Espitia. 2010)

- Siguiendo las recomendaciones de Araméndiz (2007), se evidenció que las semillas almacenadas en refrigerador y empacadas en bolsas herméticas conservaron buena calidad fisiológica. Se recomienda mantener el contenido de agua óptimo en las semillas entre el 12% y 14%.

- Se sugiere tomar la altura como referente en futuros ensayos de radiosensitividad en distintas variedades de esta especie, debido a la facilidad para realizar las mediciones y a los buenos niveles de correlación de esta variable con otras como el porcentaje de germinación, y el largo y ancho de la lámina foliar.

- De acuerdo a Kodym et al, *en* FAO, (2011) antes de emplear un mutágeno en aplicaciones prácticas, es necesario realizar estudios preliminares que permitan la familiarización de las respuestas del material evaluado frente al mutágeno empleado, así como las dosis optimas de éste que permitan inducir cambios favorables e incrementen la tasa de mutaciones deseadas con un mínimo de efectos adversos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Amano, E. (2004). *Mutation Breeding Manual.* Asia: Forum For Nuclear Cooperation in Asia (FNCA).

Araméndiz Hermes, C. C. (2008). *El cultivo de la berenjena.* Bogotá: Produmedios.

Aramendiz, H. (2006). Caracterización Morfológica de la Berenjena. *Temas Agrarios*, 5-14.

Aramendiz, H. J. (2006). CARACTERIZACION MORFOLOGICA DE LA BERENJENA. *Temas Agrarios*, 5-14.

Araméndiz-Tatis, H., Cardona-Ayala, C., & Correa-Álvarez, E. (2014). PARÁMETROS GENÉTICOS EN BERENJENA (Solanum melongena L.). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 361 - 369.

Aruna J, P. M. (2010). STUDIES ON EFFECT OF PHYSICAL AND CHEMICAL MUTAGENS ON SEEDLING CHARACTERS IN BRINJAL. *International Journal of Current Research, Vol. 3*, pp.038-041.

Association of Official Seed Analysts (AOSA). (2005). Seed Quality Testing. En AOSA, *Seed Quality Testing* (pág. 36).

Blasco, V. M. (2009). *CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y GENOTIPADO DE UNA POBLACIÓN INTERESPECÍFICA DE Solanum incanum x Solanum melongena L. DESARROLLO DE MARCADORES CAPs A PARTIR DE COSII Y REALIZACIÓN DE MAPA GENÉTICO.* Valencia - España - : Universidad Politécnica de Valencia.

Chikelu, M. (2013). Induced Mutations Unleash the Potentials of Plant Genetic. *Agronomy*, 200 - 231.

FAO. (2011). *Plant Mutation Breeding and Biotechnology.* Roma, Italia: Electronic Publishing Policy and Support Branch FAO.

Hermes Araméndiz, C. C. (2008). *El cultivo de la berenjena.* Bogotá: Produmedios.

IAEA. (24 de 11 de 2009). *iaea.org.* Obtenido de iaea.org: http://www.iaea.org/

IBPGR. (1990). *Descriptors for Eggplant.* Roma: IBPGR headquarters.

internacional, C. C. (2006 - 2010). *Plan Hortícola Nacional.* Bogotá: Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA).

International Atomic Energy Agency (IAEA). (8 de 11 de 2011). *International Atomic Energy Agency Report 2011,* . Obtenido de International Atomic Energy Agency Report 2011, : https://www.iaea.org/sites/default/files/publications/reports/2011/anrep2011_full.pdf

ISTA. (2005). *Seed quality testing .* Zurich : ISTA.

Lemus, Y., Méndez-Natera, J. R., & Cedeño, J. R.-G. (2002). Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol (Vigna unguiculata (L.) Walp) a radiaciones gamma. *Revista Científica UDO Agrícola*, 22-28.

López, A. M. (2013). *Determinación de ácido clorogénico en distintas variedades de berenjena.* Almería: Universidad de Almería.

M. Maluszynski, I. S. (2009). Methodologies for generating variability part 4: mutation techniques. En FAO, *Plant Breeding and Farmer participation* (pág. 159). Roma: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO).

Mármol, J. (1991). *Cultivo de la berenjena en invernadero.* Madrid: Servicio de extensión Agraria.

Medina, F. (2004). *Mutation Breeding Manual.* Asia: Forum For Nuclear Cooperation In Asia (FNCA).

Méndez, D. C. (2008). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REGENERACIÓN DE PLANTAS A PARTIR DE CALLOS PARA LA OBTENCIÓN DE SOMACLONES EN LA VARIEDAD DE ARROZ (Oryza sativa L) FEDEARROZ 50.* Bogotá: UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS.

N.A, Z. (1991). Cytogenetical Effects of Gamma Rays and Ethyl Methanesulphonate in Brinjal (Solanum melongena L.). *Cytologia*, 639-643.

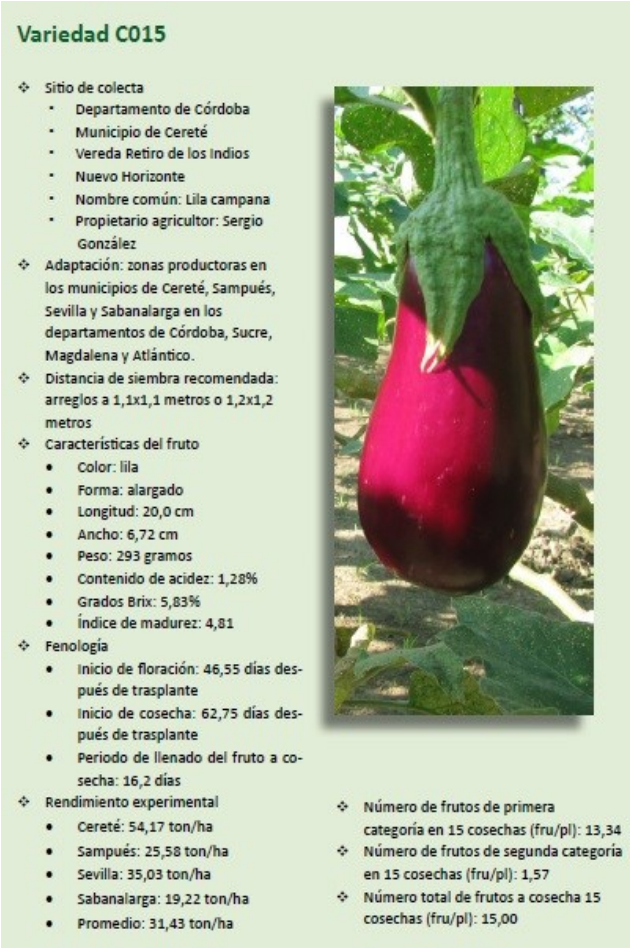
Ryan K, R. C. (2011). *Microbiología medica.* México: Mc Graw Hill.

Ukai, Y. (1983). *Mutation Breeding.* Tokyo: Yoshio Watanabe.

Ulukapi Kamile, A. G. (2015). Developments of Gamma Ray Application on Mutation Breeding Studies in Recent Years. *International Conference on Advances in Agricultural, Biological & Environmental Sciences*, 31 -34.

10. ANEXOS

10.1 FIGURAS



Variedad C015

- Sitio de colecta
  - Departamento de Córdoba
  - Municipio de Cereté
  - Vereda Retiro de los Indios
  - Nuevo Horizonte
  - Nombre común: Lila campana
  - Propietario agricultor: Sergio González
- Adaptación: zonas productoras en los municipios de Cereté, Sampués, Sevilla y Sabanalarga en los departamentos de Córdoba, Sucre, Magdalena y Atlántico.
- Distancia de siembra recomendada: arreglos a 1,1x1,1 metros o 1,2x1,2 metros
- Características del fruto
  - Color: lila
  - Forma: alargado
  - Longitud: 20,0 cm
  - Ancho: 6,72 cm
  - Peso: 293 gramos
  - Contenido de acidez: 1,28%
  - Grados Brix: 5,83%
  - Índice de madurez: 4,81
- Fenología
  - Inicio de floración: 46,55 días después de trasplante
  - Inicio de cosecha: 62,75 días después de trasplante
  - Periodo de llenado del fruto a cosecha: 16,2 días
- Rendimiento experimental
  - Cereté: 54,17 ton/ha
  - Sampués: 25,58 ton/ha
  - Sevilla: 35,03 ton/ha
  - Sabanalarga: 19,22 ton/ha
  - Promedio: 31,43 ton/ha
- Número de frutos de primera categoría en 15 cosechas (fru/pl): 13,34
- Número de frutos de segunda categoría en 15 cosechas (fru/pl): 1,57
- Número total de frutos a cosecha 15 cosechas (fru/pl): 15,00

Figura 1a. Descripción variedad CO015

Fuente: *Selección de Cultivares Competitivos de Berenjena para los Mercados Nacionales y de Exportación, con Adaptación a las Condiciones del Caribe Colombiano* (Corpoica,2011)

Variedad PH10

- Sitio de colecta
  - Departamento de Córdoba
- Color del fruto
  - Morado
- Forma del fruto
  - Forma de pera
- Longitud del fruto
  - 17,6 cm
- Diámetro del fruto
  - 7,50 cm
- Peso promedio de fruto
  - 218g
- Peso de 100 semilas
  - 0,30 g
- Número de frutos /planta
  - 19
- Firmeza del fruto
  - 11,32 kgf/cm
- Número de ramas /planta
  - 7,18
- Número de semillas/fruto
  - 2320
- Altura de Planta a primera cosecha
  - 96,50 cm
- Días a floración
  - 46
- Días a primera cosecha
  - 70
- Rendimiento Apróx.
  - 28 Ton/ha

Figura 1b. Descripción variedad PH10

Fuente: *Araméndiz, Hermes. 2016*

10.2 TABLAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA

10.2.1 **Tabla 2.** Análisis de Varianza para Altura (Cm) según dosis y genotipos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Dosis (Gy)	100,018	6	16,6696	70,62	**0,0000**
B:Genotipo	0,623584	1	0,623584	2,64	0,1050
RESIDUOS	77,1832	327	0,236034		
TOTAL (CORREGIDO)	177,503	334			

Fuente: Statgraphics centurión

10.2.2 **Tabla 3.** Análisis de Varianza para % germinación según genotipos y tratamientos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Genotipo	254,069	1	254,069	1,13	0,2945
B:Dosis (Gy)	10000,7	6	1666,78	7,44	**0,0000**
RESIDUOS	7618,9	34	224,085		
TOTAL (CORREGIDO)	17873,7	41			

Fuente: Statgraphics centurion

10.2.3 **Tabla 4.** Análisis de Varianza para % emergencia según genotipos y tratamientos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Genotipo	609,524	1	609,524	2,78	0,1047
B:Dosis (Gy)	695,238	6	115,873	0,53	0,7828
RESIDUOS	7457,14	34	219,328		
TOTAL (CORREGIDO)	8761,9	41			

Fuente: Statgraphics centurion

10.2.4 **Tabla 5.** Análisis de Varianza para Largo de la hoja según genotipos y tratamientos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Genotipo	0,0380692	1	0,0380692	0,08	0,7774
B:Dosis (Gy)	81,0917	6	13,5153	28,45	**0,0000**
RESIDUOS	118,304	249	0,475115		
TOTAL (CORREGIDO)	199,525	256			

Fuente: Statgraphics centurion

10.2.5 Tabla 6. Análisis de Varianza para Ancho de la hoja según genotipos y tratamientos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Genotipo	0,415217	1	0,415217	1,49	0,2239
B:Dosis (Gy)	54,6284	6	9,10473	32,60	**0,0000**
RESIDUOS	69,5385	249	0,279271		
TOTAL (CORREGIDO)	124,729	256			

Fuente: Statgraphics centurion

10.2.6 Tabla 7. Correlación de Spearman para DOSIS x Altura x LARGO HOJA x ANCHO HOJA

	ALTURA(Cm)	*ANCHO (cm)*	*DOSIS (Gy)*	*LARGO (cm)*
Recuento	257	257	257	257
Promedio	1,57665	2,28405	256,809	1,69805
Desviación Estándar	0,673725	0,882832	188,026	0,698013
Coeficiente de Variación	42,7314%	38,6521%	73,2163%	41,1067%
Mínimo	0,3	0,4	0	0,3
Máximo	3,1	4,4	600,0	3,5
Rango	2,8	4,0	600,0	3,2
Sesgo Estandarizado	0,386206	0,14489	1,98612	1,10757
Curtosis Estandarizada	-3,0828	-2,21586	-3,03553	-2,08893

Correlaciones

	ALTURA(Cm)	ANCHO (cm)	DOSIS (Gy)	LARGO (cm)
ALTURA(Cm)		0,3415	-0,8227	0,3337
		(257)	(257)	(257)
		0,0000	0,0000	0,0000
ANCHO (cm)	0,3415		-0,2854	0,9336
	(257)		(257)	(257)
	0,0000		0,0000	0,0000
DOSIS (Gy)	-0,8227	-0,2854		-0,2721
	(257)	(257)		(257)
	0,0000	0,0000		0,0000
LARGO (cm)	0,3337	0,9336	-0,2721	
	(257)	(257)	(257)	
	0,0000	0,0000	0,0000	

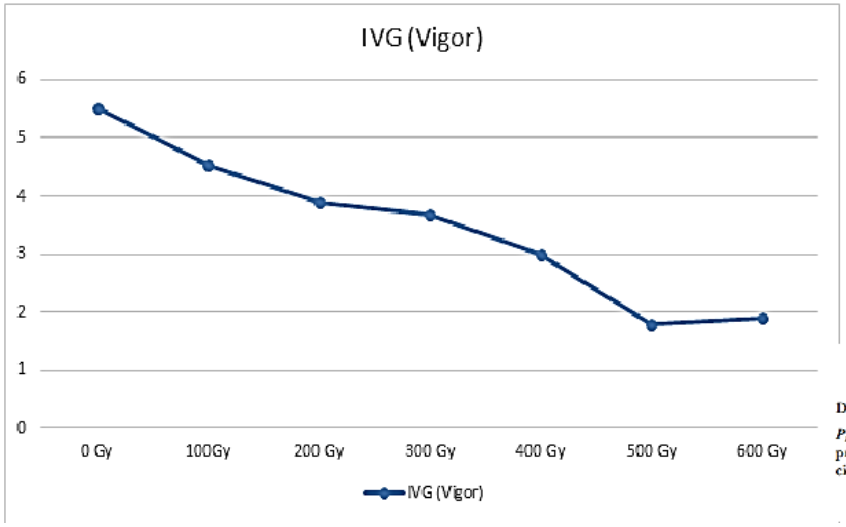
Los siguientes pares de variables tienen significancia estadística en las correlaciones estimadas

ALTURA (Cm) y ANCHO (cm) ALTURA (Cm) y DOSIS (Gy)
ALTURA (Cm) y LARGO (cm) ANCHO (cm) y DOSIS (Gy)
ANCHO (cm) y LARGO (cm) LARGO (cm) y DOSIS (Gy)

Fuente: Statgraphics centurion

10.3 GRÁFICOS

10.3.1 **Gráfico 1**. Índice de Velocidad de Germinación (I.V.G) Días en función de las Dosis.



Dosis (Gy)	IVG Plántulas/Día
0 Gy	5,52
100 Gy	4,52
200 Gy	3,88
300 Gy	3,66
400 Gy	3
500 Gy	1,78
600 Gy	1,9

$IVG = P_1/T_1 + P_2/T_2 + P_3/T_3 + \ldots + P_n/T_n$;

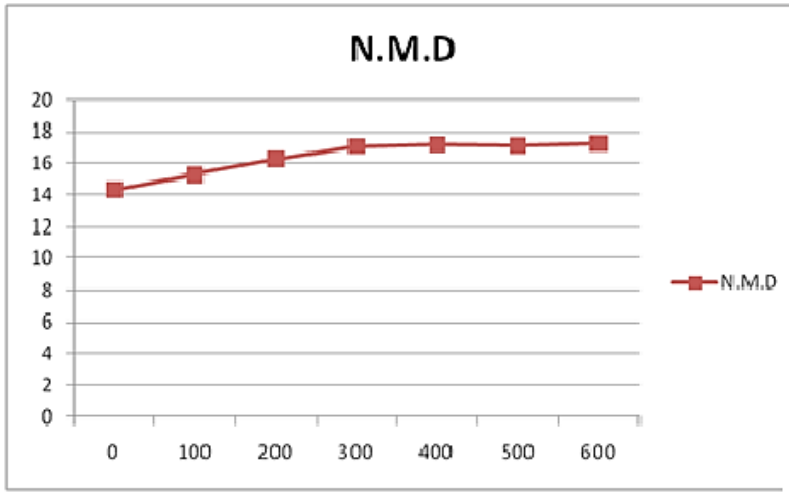
Donde,

$P_1, P_2, P_3, \ldots, P_n$ = número de plántulas normales en el primer, segundo, tercer y último conteo de la evaluación.

$T_1, T2, T3, \ldots Tn$ = tiempo para cada germinación.

Fuente: Araméndiz, 2007 (Efectos del almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de berenjena.

10.3.2 **Gráfico 2.** Número medio de días para la germinación (N.M.D) en función de las Dosis.



Dosis (Gy)	N.M.D
0	14.32
100	15.25
200	16.26
300	17.08
400	17.2
500	17.11
600	17.28

$$n.m.d = \frac{(N_1xT_1 + N_2xT_2 + N_3xT_3)}{n},$$

donde:

n.m.d = Número medio de días para que germine la semilla

N = Número de semillas germinadas dentro de los intervalos de tiempo consecutivos

T = Tiempo transcurrido (días)entre el inicio de la prueba y el fin del intervalo

n = Número total de semillas germinadas

Fuente: Lemus et al. 2002 (*Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol a radiaciones gamma*)