



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA**

**MUTACIONES INDUCIDAS MEDIANTE RADIACIONES  
GAMMA PARA CARACTERES DE RENDIMIENTO EN SOYA  
(*Glycine max* L. Merrill) GENOTIPO H10-2416 Y  
VARIEDAD HUASTECA 400**

**LUIS ANTONIO GÁLVEZ MARROQUÍN**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO  
2017**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Luis Antonio Gálvez Marroquín, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dr. Takeo Ángel Kato Yamakake, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis "Mutaciones inducidas mediante radiaciones gamma para caracteres de rendimiento en soya (*Glycine max* L. Merrill) genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400" y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 19 de junio de 2017

  
Firma del  
Alumno (a)

  
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis intitulada “**Mutaciones inducidas mediante radiaciones gamma para caracteres de rendimiento en soya (*Glycine max* L. Merrill) genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400**”, realizado por el alumno **Luis Antonio Gálvez Marroquín**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-GENÉTICA**

**CONSEJO PARTICULAR**

Consejero:



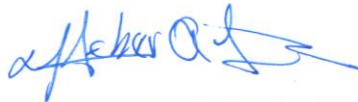
Dr. Takeo Ángel Kato Yamakake

Asesor:



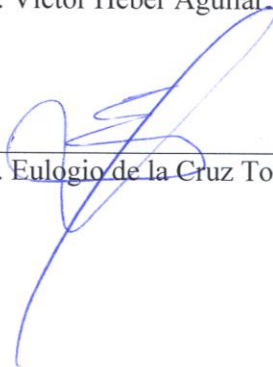
Dr. Tarsicio Corona Torres

Asesor:



Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón

Asesor:



Dr. Eulogio de la Cruz Torres

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio 2017

**Mutaciones inducidas mediante radiaciones gamma para caracteres de rendimiento en soya  
(*Glycine max* L. Merrill) genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400**

Luis Antonio Gálvez Marroquín, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

**RESUMEN**

Los objetivos fueron evaluar la radiosensibilidad de semillas del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400 a los rayos gamma  $Co^{60}$ , la inducción de mutaciones y selección de mutantes con potencial de alto rendimiento para las condiciones edafoclimáticas prevalecientes en la zona productora de soya de la región del Soconusco, Chiapas. La evaluación de la radiosensibilidad e inducción de mutaciones se llevaron a cabo con dosis de 50 hasta 500 Gy, con intervalos de 50 Gy. En el estudio de radiosensibilidad se sometieron 100 semillas por dosis de radiación gamma, las cuales fueron sembradas bajo condiciones de campo en Tapachula, Chiapas. Se utilizó un diseño experimental bloques al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental se conformó del total de plantas existentes en 1.6 m<sup>2</sup> de suelo, de donde se evaluó la germinación, sobrevivencia, altura de planta y número de semillas en cada una de los materiales genéticos en estudio. La inducción de mutaciones se llevó a cabo con 48 semillas por dosis de cada material genético, las cuales se sembraron en macetas bajo condiciones de invernadero en Texcoco de Mora, Estado de México, para obtener la generación M1, bajo un diseño experimental bloques al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental se conformó de tres macetas en donde se depositaron cuatro semillas por cada maceta. La generación M2 se estableció en Tapachula, Chiapas, con semillas de 69 y 104 plantas M1 del genotipo de soya

H10-2416 y variedad Huasteca 400, respectivamente. Se utilizó un diseño experimental bloques al azar con tres repeticiones, y la unidad experimental se conformó por el total de plantas existentes en una superficie de 0.6 m<sup>2</sup> de suelo. En el aspecto de inducciones de mutaciones se evaluaron días a floración, altura de planta, número de vainas y semillas, y se seleccionaron mutantes con potencial de alto rendimiento de grano de cada material genético. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y la comparación de medias mediante Tukey y Duncan, para radiosensibilidad e inducción de mutaciones, respectivamente. Los resultados de radiosensibilidad indicaron una mayor tolerancia de H10-2416 a los rayos gamma que Huasteca 400. Asimismo, se observó una correlación negativa de las variables de estudio con la dosis de radiación. En función de la GR<sub>30</sub> para altura de planta, dosis de 368 y 414 Gy ± 5 % pueden ser útiles para inducir variación genética en la soya Huasteca 400 y H10-2416. Mientras en inducción de mutaciones, dosis de 150 y 200 Gy, indujeron variación genética de interés para caracteres de rendimiento, específicamente para Huasteca 400 y H10-2416, respectivamente. Asimismo, se identificó en la población M2 de H10-2416 y Huasteca 400, las plantas de soya mutantes 123-1 y 123-4, respectivamente, como potenciales para alto rendimiento de grano.

Palabras clave: *Glycine max*, radiosensibilidad, mutantes, mutaciones, rayos gamma.

**Gamma radiation induced mutations for yield characteristics in soybean (*Glycine max* L. Merrill) genotype H10-2416 and Huasteca 400 variety**

Luis Antonio Gálvez Marroquín, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

**ABSTRACT**

The objectives were to evaluate the radiosensitivity of soybean seeds, genotype H10-2416 and Huasteca 400 variety, to  $^{60}\text{Co}$  gamma rays, as well as mutation induction, and selection of mutants with high yield potential for the edaphic and climatic conditions prevailing in the Soconusco soybean-producing region in Chiapas. Radiosensitivity evaluation and mutation induction were carried out with doses ranging from 50 to 500 Gy, at 50 Gy intervals. In the radiosensitivity evaluation, 100 seeds per gamma radiation dose were treated and sown under field conditions in Tapachula, Chiapas. A randomized block experimental design with four replicates was used. The experimental unit was made up of the total existing plants in 1.6 m<sup>2</sup> of ground, where germination, survival, plant height, and number of seeds were evaluated in each of the genetic materials under study. Mutation induction was done with 48 seeds per dose of each genetic material. These were sown in growing pots under greenhouse conditions in Texcoco de Mora, the State of Mexico, under a randomized block experimental design with four replicates, in order to obtain the M1 generation. The experimental unit consisted of three pots and four seeds per pot. The M2 generation was established in Tapachula, Chiapas, with seeds from 69 and 104 M1 plants of the soybean genotype H10-2416 and the Huasteca 400 variety, respectively. A randomized block design with three replicates was used, and the experimental unit was made up of the total plants existing in 0.6 m<sup>2</sup> of ground. Regarding mutation induction, the evaluated variables were days to flowering, plant height, number of pods, and number of seeds; mutants with high grain yield potential were selected from each genetic material. The data were subjected to an analysis of variance and mean comparison test through Tukey and Duncan for radiosensitivity and mutation induction, respectively. The radiosensitivity results indicated a higher tolerance to gamma rays in H10-2416 than Huasteca 400. Likewise, a negative correlation of the study variables with the radiation dose was observed. In function of GR<sub>30</sub> for plant height, doses of 368 and 414 Gy  $\pm$  5 % can be useful to induce genetic variation in Huasteca 400 and

H10-2416 soybean. Meanwhile, with regard to mutation induction, doses of 150 and 200 Gy induced genetic variation interesting to yield characteristics, specifically in Huasteca 400 and H10-2416, respectively. Moreover, the 123-1 and 123-4 mutant soybean plants in the M2 populations of H10-2416 and Huasteca 400, respectively, were identified as having potential for high grain yield.

**Keywords:** *Glycine max*, radiosensitivity, mutant, mutations, gamma rays.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias en el COLPOS.

Al Dr. Takeo Ángel Kato Yamakake, Dr. Tarsicio Corona Torres, Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón, Profesores Investigadores del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y al Dr. Eulogio de la Cruz Torres, Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, por su apoyo incondicional en la mejora del proyecto de investigación y la tesis de Maestría en Ciencias: “Mutaciones inducidas mediante radiaciones gamma para caracteres de rendimiento en soya (*Glycine max* L. Merrill) genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400”.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares por las facilidades brindadas para realizar las irradiaciones en el Departamento del Irradiador Gamma.

Al Dr. Moisés Alonso Báez, Ing. Víctor Hugo Díaz Fuentes y M.C. Manuel Grajales Solís, Investigadores del Campo Experimental Rosario Izapa dependiente del INIFAP, por el apoyo brindado en actividades inherentes a los experimentos de mutagénesis en soya.

A los estudiantes de Licenciatura de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Joaquín Verdugo Velázquez, Daniel González Pérez, Sergio Oliver Bartolón Morales, Federico Ruiz de la Rosa, Romeo Santiago Hernández, Arturo Javier Pérez Hernández, Adrián Posada Flores, Elena Beatriz Hernández López, Edwin Daniel Sánchez Pérez y Rigoberto Martín Ramos, por su apoyo incondicional en las actividades inherentes a los experimentos de mutagénesis en soya.



**Dedicado a**

***Mi angelito “Jesús” y a mi familia***

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivo general .....	4
Objetivos particulares.....	4
HIPÓTESIS .....	4
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1.1. La soya <i>Glycine max</i> L. ....	5
1.1.1. Origen y distribución .....	5
1.1.2. Taxonomía y descripción botánica .....	6
1.1.3. Importancia y usos .....	7
1.1.4. La soya en México y en el Estado de Chiapas.....	8
1.1.5. Mejoramiento genético de la soya .....	9
1.2. Mutagénesis inducida en plantas .....	11
1.2.1. La radiación gamma como agente mutagénico.....	12
1.2.2. Efecto de la radiación gamma en las plantas .....	12
1.2.3. Radiosensibilidad.....	14
1.2.4. Ajuste de modelos estadísticos para la estimación de la DL <sub>30-50</sub> y GR <sub>30-50</sub> .....	17
1.2.5. Mejoramiento genético asistido por mutagénesis inducida: caso radiación gamma	19
1.2.6. Mejoramiento genético de soya asistido por mutagénesis.....	22
1.3. Literatura citada.....	23
CAPÍTULO II. RADIOSENSIBILIDAD DE SOYA GENOTIPO H10-2416 Y VARIEDAD HUASTECA 400 A RADIACIONES DE Co <sup>60</sup> .....	32
2.1. Resumen .....	32
2.2. Abstract.....	33
2.3. Introducción.....	34
2.4. Materiales y métodos.....	36
2.4.1. Material genético .....	36

2.4.2. Irradiación del material genético .....	37
2.4.3. Establecimiento del experimento.....	37
2.4.4. Análisis de datos .....	38
2.5. Resultados.....	39
2.5.1. Germinación.....	39
2.5.2. Supervivencia de plantas .....	41
2.5.3. Altura de planta.....	45
2.5.4. Número de semillas .....	49
2.6. Discusión .....	53
2.7. Conclusiones.....	57
2.8. Literatura citada.....	57
<b>CAPÍTULO III. MUTACIONES INDUCIDAS POR Co<sup>60</sup> PARA RENDIMIENTO DE SOYA GENOTIPO H10-2416 Y VARIEDAD HUASTECA 400.....</b>	<b>62</b>
3.1. Resumen .....	62
3.2. Abstract.....	63
3.3. Introducción.....	64
3.4. Materiales y métodos.....	66
3.4.1. Material genético e irradiación .....	66
3.4.2. Población M1 .....	66
3.4.3. Población M2.....	66
3.4.4. Diseño experimental y variables de respuesta .....	68
3.4.5. Análisis de datos .....	69
3.5. Resultados.....	69
3.5.1. Días a floración.....	69
3.5.2. Altura de planta.....	71
3.5.3. Número de vainas por planta .....	73
3.5.4. Número de semillas por planta .....	75
3.5.5. Selección de mutantes de soya potenciales para rendimiento .....	77
3.6. Discusión .....	83
3.7. Conclusiones.....	87
3.8. Literatura citada.....	88

CAPITULO IV. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES..... 94

4.1. Discusión general ..... 94

4.2. Conclusiones..... 100

4.3. Literatura citada..... 101

## LISTA DE CUADROS

### CAPÍTULO II

Cuadro 1. Características agronómicas de la soya Huasteca 400 y H10-2416 .....	37
Cuadro 2. Porcentaje de germinación de semillas de soya H10-2416 y Huasteca 400 a los 9 DDS en función de la dosis de radiación gamma $Co^{60}$ .....	40
Cuadro 3. Modelos de regresión lineal para la determinación de la $DL_{30}$ de germinación.....	41
Cuadro 4. Número promedio de plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400, en la fase fenológica R1, en función de la dosis de radiación gamma $Co^{60}$ .....	42
Cuadro 5. Modelos de regresión lineal múltiple para la determinación de la $DL_{30}$ de la sobrevivencia de plantas de soya H10-2416 y Huasteca 400 en función de la dosis de radiación gamma $Co^{60}$ .....	44
Cuadro 6. Promedio de altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 en R1 en función de la dosis de radiación gamma $Co^{60}$ .....	45
Cuadro 7. Modelos de regresión lineal para determinar la $GR_{30}$ de altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 en la fase R1, en función de la dosis de radiación gamma $Co^{60}$ .....	47
Cuadro 8. Promedio de número de semillas por planta en soya H10-2416 y Huasteca 400 en función de la radiación gamma $Co^{60}$ .....	50
Cuadro 9. Modelos de regresión lineal para la determinación de la $GR_{30}$ de número de semillas por planta de soya H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la radiación gamma $Co^{60}$ .....	51
Cuadro 10. Porcentaje de plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400 con grupos de flores anormales por efecto de la radiación gamma .....	52

### CAPÍTULO III

Cuadro 1. Número de plantas de soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400 utilizadas para la generación de la población M2.....	68
Cuadro 2. Promedio, mínima y máxima de días a floración de líneas M2 del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, en función de la dosis de radiación gamma Co <sup>60</sup> .....	71
Cuadro 3. Promedio, mínima y máxima de altura de planta de líneas de soya M2 de H10-2416 y Huasteca 400, en función de la dosis de radiación gamma Co <sup>60</sup> .....	73
Cuadro 4. Promedio, mínima y máxima de número de vainas por planta M2 en la soya genotipo H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la dosis de radiación gamma Co <sup>60</sup> . ....	75
Cuadro 5. Promedio, mínima y máxima de número de semillas por planta M2 en la soya genotipo H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la dosis de radiación gamma Co <sup>60</sup> . ....	77
Cuadro 6. Componentes de rendimiento de plantas M2 seleccionadas del genotipo de soya H10-2416.....	81
Cuadro 7. Componentes de rendimiento de plantas M2 seleccionadas de la variedad de soya Huasteca 400. ....	82

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura 1. Método de mejoramiento genético por mutaciones.....	21
---	----

### CAPÍTULO II

Figura 1. Tasas de crecimiento de altura de planta M1 de los tratamientos de irradiación y control de H10-2416, en función del tiempo.....	48
Figura 2. Tasas de crecimiento de altura de planta M1 de los tratamientos de irradiación y control de Huasteca 400 en función del tiempo. ....	49
Figura 3. Grupos de flores anormales en plantas de soya H10-2416 y Huasteca 400 por efecto de la radiación gamma. 1). H10-2416, dosis de 250 Gy, 2) H10-2416, dosis de 450 Gy, y 3), Huasteca 400, dosis de 450 Gy. ....	52

### CAPÍTULO III

Figura 1. Número vainas producidas en las plantas de soya seleccionadas de la población M2 y en el tratamiento control genotipo H10-2416. ....	78
Figura 2. Número vainas producidas en las plantas de soya seleccionadas de la población M2 y en el tratamiento control variedad Huasteca 400. ....	79
Figura 3. Aspecto de planta control y mutante M2 de soya genotipo H10-2416. a). Planta control, y b). Planta mutante 123-1. ....	83
Figura 4. Aspecto de planta control y mutante M2 de soya Huasteca 400. a). Planta control, y b). Planta mutante 123-4.....	83

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La soya (*Glycine max* L. Merrill) es una leguminosa importante por el contenido y calidad de proteína y aceite en su grano. Además, contiene diversos compuestos fitoquímicos que se han relacionado con efectos benéficos para la salud humana, por lo que se categoriza como alimento funcional (Salgado y Donado-Pestana, 2011).

En México se produce soya en una superficie de 280,126.31 ha, con rendimiento promedio de 1.83 t ha<sup>-1</sup> y una producción de 509,113.62 toneladas de grano, cantidad que sólo abastece 3 % de la demanda nacional (SIAP, 2016). La SAGARPA (2016) reporta la importación de 2,769,756 toneladas de grano y residuos de soya de Estados Unidos, con valor de 1,036,221 miles de dólares. Una forma de reducir la cantidad de grano importado es mediante el incremento del rendimiento de grano por unidad de superficie, con el uso de nuevas variedades de soya que permitan obtener rendimientos superiores a los promedios actuales por región.

Chiapas ocupa el sexto lugar a nivel nacional en superficie sembrada con soya (12,872 ha), concentrado en 98 % de superficie sembrada en la región Soconusco (SIAP, 2016). En esta superficie de siembra se utiliza semilla de algunas variedades de soya cuyos promedios de producción se encuentran entre 2.58 y 2.95 t ha<sup>-1</sup>. El mejoramiento genético de la soya en esta región se realiza principalmente por selección de líneas puras provenientes del Campo Experimental Las Huastecas dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El genotipo H10-2416 y la variedad Huasteca 400 son dos de los materiales genéticos de soya que han presentado adaptabilidad a las condiciones de clima y



suelo de la región Soconusco, con rendimientos de 3.3 y 2.6 t ha<sup>-1</sup>, así como baja y mediana sensibilidad al fotoperiodo corto, respectivamente.

Al igual que en otras especies vegetales, una alternativa para incrementar los rendimientos en soya es mediante la mutagénesis inducida, misma que ofrece la ventaja, con respecto a los métodos convencionales de mejoramiento genético, de obtener materiales con buenas características de rendimiento en un menor lapso de tiempo (Oladosu *et al.*, 2016; Foster y Shu, 2012).

El uso de la mutagénesis inducida en cultivos, ha permitido la generación de mutantes de uso indirecto o directo que han contribuido a la seguridad alimentaria mundial (Kharkwal y Shu, 2009). En la base de datos de variedades mutantes de la Agencia Internacional de Energía Atómica, se reporta más de 3200 variedades de uso comercial en más de 210 especies de plantas desarrolladas en más de 70 países. La mayoría de estas variedades se han desarrollado principalmente en cereales (49.5 %), flores/ornamentales (21.9 %) y leguminosas (15 %) (FAO/IAEA, 2016).

En el caso particular de soya, se han desarrollado variedades y líneas de alto rendimiento como Bangsakong derivada de la irradiación de CB-27 a 250 Gy, que presentó 15 % más de rendimiento de grano comparado con la variedad élite Jangyeopkong (2.58 y 2.24 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente) (Kang *et al.*, 2007). Tambe y Apparao (2009) identificaron un mutante de soya con rendimiento de grano superior al parental en 247 %, en la generación M2 de la variedad MACS-450 en dosis de 300 Gy. En México, Castillo-Torres *et al.* (1998) generaron, en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) las variedades

Héctor y Esperanza a partir de la irradiación de semillas de la variedad Suaqui E-2-1-M y E-1-1-M a 150 Gy, cuyas características principal fueron la resistencia al ataque de mosquita blanca con alto rendimiento para la región noreste del país. También se ha desarrollado la variedad Salcer, en el Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CESAEGRO), con rendimientos superiores a las variedades cultivadas en la región.

La mutagénesis inducida se realiza con mutágenos químicos y físicos (Kangarasu *et al.*, 2014). Sin embargo, la radiación gamma es el mutágeno de mayor uso en el mejoramiento de plantas, ya que permite generar mutaciones múltiples en el genoma de interés por su interacción directa e indirecta con el ADN. Estas mutaciones generalmente se pueden detectar en la generación M2, con una frecuencia del 90 a 100 % (Foster y Shu, 2012).

Para iniciar un programa de mejoramiento asistido por mutagénesis inducida es necesario determinar la dosis óptima del mutágeno que permita generar con mayor frecuencia mutaciones deseables en el material genético objetivo, con el mínimo de efectos no deseados. Esto debido a que los resultados obtenidos de estudios de radiosensibilidad en diferentes especies, indican que existe una respuesta diferencial aún entre variedades de la misma especie (Olasupo *et al.*, 2016; Horn y Shimelis, 2013; Magori *et al.*, 2010) y entre individuos sometidos a la misma dosis en la generación M1 (Kodym *et al.*, 2009). Mientras que en la generación M2, se requiere identificar la dosis efectiva que permita generar variación genética asociada con caracteres de alto rendimiento de grano de soya, ya que se reporta diferentes dosis en función del material biológico (Tambe y Apparao, 2009; Kang *et al.*, 2007; Castillo-Torres *et al.*, 1998).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar la variación genética inducida por las radiaciones gamma  $\text{Co}^{60}$  para caracteres de rendimiento en el genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400.

### **Objetivos particulares**

- i. Determinar la radiosensibilidad de semillas de soya del genotipo H10-2416 y de la variedad Huasteca 400 por efecto de la radiación gamma de  $\text{Co}^{60}$ .
- ii. Inducir mutaciones y seleccionar mutantes potenciales para rendimiento de grano mediante el uso de la radiación gamma en el genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400 en la generación M2.

## **HIPÓTESIS**

Los materiales biológicos varían su radiosensibilidad dependiendo de la estructura genética de cada material, por lo tanto, si se quiere conocer la radiosensibilidad y la dosis efectiva para inducir mutaciones asociadas con caracteres de alto rendimiento de grano del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400 se requiere un estudio específico para ellos.

## CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1. La soya *Glycine max* L.

#### 1.1.1. Origen y distribución

La soya *Glycine max* es originaria de China y se derivó de la especie silvestre *Glycine soja* (Qiu y Chang, 2010). En el siglo XVII, la soya fue introducida a Europa y en el siglo XVIII a Estados Unidos (Scaboo *et al.*, 2010). Hoy en día, la soya se siembra en 28 países, los cuales son: Argentina, Australia, Bolivia, Brasil, Canadá, Chile, Croacia, Cuba, China, Estados Unidos, Francia, India, Indonesia, Irán, Italia, Japón, Corea, México, Nigeria, Pakistán, Paraguay, Rusia, Serbia, Tailandia, Ucrania, Uganda, Uruguay y Vietnam. Entre los países que presentan mayor producción y comercialización de soya, se encuentra en primer lugar Estados Unidos, seguido de Brasil y Argentina (FAOSTAT, 2014).

En 1911, la Secretaria de Agricultura y Fomento, introdujo la soya a México para fines experimentales. Crispin y Barriga (1970) reportan que en 1958, se sembraron 300 hectáreas de soya en el Valle del Yaqui, Sonora y posteriormente, se extendió el cultivo a Chiapas, Chihuahua, Sinaloa, Tamaulipas y Veracruz. Según información del SIAP (2016) en el presente se siembra soya en Campeche, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, y entre ellos Tamaulipas, con el 39.28 % de la superficie cultivada con soya es el principal estado productor del país, mientras Chihuahua es el que presenta mayor rendimiento ( $2.86 \text{ t ha}^{-1}$ ).

### 1.1.2. Taxonomía y descripción botánica

La soya taxonómicamente pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Papilioniodae y género *Glycine*. La especie *Glycine max* es diploide y presenta cuarenta cromosomas  $2n=40$  (Scaboo *et al.*, 2010); además es la especie de mayor importancia económica en el género. Es una planta anual de tipo herbáceo que presenta hábitos diferentes de crecimiento, desde erecto hasta horizontal, y tipo de crecimiento desde determinado hasta indeterminado. La raíz es pivotante con aproximadamente 40-50 cm de longitud y abundantes raíces secundarias (Grajales *et al.*, 2006), con pelos radiculares de aproximadamente 1 cm de longitud. Es común encontrar en la raíz nudosidades debido a la simbiosis con *Bradyrhizobium japonicum* (Kumudini, 2010). El tallo puede alcanzar una longitud de 30 cm hasta 1.5 m (Grajales *et al.*, 2006). El color del tallo varía desde verde claro hasta verde oscuro, donde se puede observar diferentes intensidades de pigmentación antocianina en la base del tallo, o en caso contrario la ausencia de la misma. Asimismo, presentan vellosidades de color gris o castaño.

La soya presenta en primer instancia hojas cotiledonales, posteriormente, en el primer nudo las hojas son unifoliadas, y a partir de este las hojas son trifoliadas y alternas (Kumudini, 2010), sin embargo, por mutaciones se han encontrado hojas con cuatro y cinco foliolos (Vũ y Nguyễn, 2012). Los trifolios son de color verde claro, medio y oscuro, y de forma lanceolada, triangular, oval puntiaguda u oval redondeada. En la fase de madurez las hojas se tornan de color amarillo.

Las flores son de color blanco, violeta o azul, y se presentan en todos los nudos de la planta. Cada flor puede medir de 4 a 8 mm y consiste de 5 pétalos, el superior llamada estandarte, dos laterales llamadas alas y dos inferiores que forman la quilla. Presenta 10 estambres (nueve unidos y un

filamento de estambre libre) que se encuentran alrededor del pistilo. El pistilo presenta una curvatura dirigida hacia el estambre libre.

Las vainas son de forma oblonga o cilíndrica aplanada (Grajales *et al.*, 2006), de color verde que se tornan a marrón claro, medio y obscuro en la madurez. Las vainas miden de 2 hasta 5 cm y según el genotipo presentan vellosidades con densidad y color (café claro u oscuro) diferentes. En general, las vainas contienen de 1 hasta 4 semillas.

Las semillas son de forma subsférica, subsférica aplanada, alargada y alargada aplanada. El tegumento puede ser de color amarillo, verde amarillento, verde, marrón claro, marrón medio, marrón oscuro o negro (Bo-Keun Ha *et al.*, 2014). El hilio puede ser de color gris, amarillo, marrón claro, marrón medio, marrón oscuro o negro. El tamaño y peso de las semillas depende de la variedad. Grajales *et al.* (2006) reporta que por lo general miden de 3 a 8 mm y el peso de 100 semillas se encuentra entre 12 y 18 g.

### **1.1.3. Importancia y usos**

La soya es una leguminosa importante por el contenido y calidad de proteína y aceite en su grano, los cuales van desde 38 a 42 % y de 13.9 hasta 24.61 %, respectivamente (Maldonado y Ascencio, 2014; Manjaya, 2009). No obstante, a la cantidad de proteína y aceite, la calidad de los mismos es de interés para la alimentación humana. Las proteínas están constituidas por aminoácidos esenciales tales como isoleucina, leucina, lisina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, valina, histidina, metionina y triptófano. Respecto al aceite, están conformados por ácidos palmítico, esteárico, linolénico, linoléico y oleico. Este último ácido graso permite reducir el padecimiento de enfermedades cardiovasculares (Maldonado-Moreno y Ascencio-Luciano,

2014). Respecto al ácido linoléico, es esencial para el crecimiento y mantenimiento de la piel (Luna, 2007).

Además, el grano de soya contiene diversos compuestos fitoquímicos que se han relacionado con efectos benéficos para la salud humana, por lo que se categoriza como alimento funcional (Salgado y Donado-Pestana, 2011). Los principales fitoquímicos que presenta son fitoestrógenos como isoflavones (genisteína y daidzeína) y lignanos.

El grano de soya es procesado para la obtención de varios productos destinados a la alimentación humana y como componente de la dieta balanceada para el sector pecuario. El aceite y la pasta de soya son los principales productos obtenidos del grano de esta leguminosa. No obstante, también se procesa para la producción de leche, margarina, queso (tofu), germinado, salsa, bebidas alcohólicas, entre otros (Ali, 2010).

#### **1.1.4. La soya en México y en el Estado de Chiapas**

En México, la soya es un cultivo importante principalmente por el alto contenido de proteína en su grano, ya que en presentación de pasta se utiliza como componente de la dieta balanceada en el sector pecuario. Se produce soya en una superficie de 280,126.31 ha, de donde se obtienen 509,113.62 toneladas de grano. Esta producción se obtiene de Campeche, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, con un rendimiento promedio de 1.83 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2016).

La producción de grano de soya en México representa aproximadamente 3 % de la cantidad anual requerida. Según la SAGARPA (2016), se importa 2,769,756 toneladas de grano y residuos de soya de Estados Unidos, con valor de 1,036,221 miles de dólares

Chiapas ocupa el sexto lugar a nivel nacional en superficie sembrada con soya (12,872.2 ha). El 98 % de dicha superficie se localiza en la región Soconusco (SIAP, 2016). La siembra principalmente se realiza en época de temporal para la producción de grano, mientras que bajo condiciones de riego se destina para semilla. Algunas de las variedades de semillas utilizadas para la siembra son Luziânia y Valiosa con rendimientos de 2.78 t ha<sup>-1</sup>, Huasteca 100 y 200 con 2.95 y 2.58 t ha<sup>-1</sup>.

#### **1.1.5. Mejoramiento genético de la soya**

El mejoramiento genético de soya se ha realizado por métodos convencionales, transformación genética y por mutaciones (Malek *et al.*, 2014; Scaboo *et al.*, 2010; Hinchee *et al.*, 1988). No obstante, debido a la reducida base genética de la soya, en los últimos años, el mejoramiento genético de esta leguminosa se ha realizado principalmente por mutagénesis con resultados favorables, como la obtención de variedades mutantes directas o líneas mutantes portadoras de algún rasgo de interés agroindustrial (Kharkwal y Shu, 2009; Tambe y Apparao, 2009; Khang *et al.*, 2007; Castillo-Torres *et al.*, 1998; Tulmann-Neto y Alves, 1997).

En México, el mejoramiento genético de la soya se realiza principalmente por selección y en menor medida por mutagénesis; en los años 1998 y 1999, Malvinas S.A. de C.V. y Seminis Vegetable Seeds Inc., desarrollaron las variedades de soya Cristalina SF y FT-Estrella RR resistentes al glifosato, las cuales hoy en día han sido prohibidas para la siembra comercial.



El Servicio Nacional de Inspección y Certificación de semillas (SNICS, 2016) reporta el registro de 25 variedades de soya desde 1963 hasta el 2015, de las cuales más del 56 % han sido desarrolladas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Dichas variedades son Cajeme, Suaqui 86, Tapachula 86, Harbar 88, Balbuena S-94, Huasteca 100, 200, 300, 400, 600, Naynari, Guayparime S-10, Tamesí y Vernal. En la mayoría de los casos las variedades han sido liberadas por mostrar características de alto rendimiento; poca sensibilidad al fotoperiodo (Maldonado-Moreno y Ascencio-Luciano, 2010); tolerancia a enfermedades; resistencia a defoliadores, mosquita blanca (Cortez *et al.*, 2013), alto contenido de aceite y proteína (Maldonado-Moreno y Ascencio-Luciano, 2014); y doble propósito forraje-grano.

Respecto a las variedades de soya obtenidas por mutagénesis, las variedades de soya Héctor y Esperanza del INIFAP se derivaron de la irradiación de semillas de la variedad Suaqui E-2-1-M y E-1-1-M a 150 Gy, cuya característica principal fue la resistencia al ataque de mosquita blanca [Gray (Gy), se refiere a la dosis absorbida de radiación ionizante, un gray es la absorción de un joule de energía de radiación ionizante por un kilogramo de materia] (Castillo-Torres *et al.*, 1998). Otro mutante de soya, es la variedad Salcer que se desarrolló en el Centro de Estudios Profesionales (CEP) del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro), mediante la exposición recurrente de semillas de la variedad ISAAEG-BM2 a 200 Gy de rayos gamma; esta variedad mostró incremento de la altura a la primer vaina, mayor rendimiento de grano (4.47 t ha<sup>-1</sup>) y forraje para las condiciones de Iguala, Guerrero.

Por otra parte, en la región Soconusco, Chiapas, el mejoramiento genético de la soya se realiza principalmente por selección de líneas puras provenientes del Campo Experimental Las Huastecas dependiente del INIFAP. El genotipo H10-2416 y la variedad Huasteca 400 son algunos materiales genéticos de soya que han presentado adaptabilidad a las condiciones de clima y suelo de la región Soconusco, con rendimientos entre 3.3 y 2.6 t ha<sup>-1</sup>, así como baja y media sensibilidad al fotoperiodo, respectivamente. Sin embargo, no se han iniciado programas de mejoramiento genético asistido por mutagénesis para la búsqueda de nuevos genotipos con potencial de rendimiento o para tolerancia a insectos plaga presentes en la región.

## **1.2. Mutagénesis inducida en plantas**

Foster y Shu (2012), definen la mutagénesis como el proceso por el cual la información genética de un organismo es cambiada a una manera estable. La mutagénesis puede ocurrir de manera natural o ser inducida a través de agentes físicos y químicos. Esta última con una mayor frecuencia y dimensión de mutaciones, respecto a la natural. El principal objetivo de la mutagénesis en las plantas es la generación de variación genética, que lleva al estudio de nuevos genes con funciones de interés agroindustrial y la generación de variedades con características cualitativas y cuantitativas sobresalientes (Kharade *et al.*, 2015; Pooja y Srivastava, 2015; Usharani and Ananda-Kumar, 2015; Rathore *et al.*, 2014; Sonone *et al.*, 2010).

El uso de la mutagénesis inducida ha permitido la generación de mutantes de uso indirecto o directo que han contribuido a la seguridad alimentaria mundial (Kharkwal y Shu, 2009). En la base de datos de variedades mutantes de la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), se reporta más de 3200 variedades de uso comercial en más de 210 especies de plantas desarrolladas

en más de 70 países. La mayoría de estas variedades se han desarrollado principalmente en cereales (49.5 %), flores/ornamentales (21.9 %) y leguminosas (15 %) (FAO/IAEA, 2016).

### **1.2.1. La radiación gamma como agente mutagénico**

Los agentes mutagénicos se clasifican en químicos y físicos (Kangarasu *et al.*, 2010). Entre los diferentes agentes químicos el etil metano sulfonato (EMS) ha sido utilizado con mayor frecuencia para inducir variación genética y permitido la obtención de variedades y líneas mutantes de plantas (Leitão, 2012), mientras que entre los agentes físicos, la radiación gamma es la más utilizada para dichos fines (Mba y Shu, 2012). La razón de esto es porque la alta energía ionizante y su interacción con las moléculas de agua se inducen la formación de iones, que provocan daños múltiples directos o indirectos en el genoma de interés, y mediante los mecanismos de reparación del ADN, se incrementa la producción de diferentes mutaciones, las cuales pueden ser detectadas en la generación M2. Así mismo, ofrece la ventaja de fácil manejo del material después de la exposición a los rayos gamma (no deja residuos radioactivos en el material expuesto), disponibilidad, reproducibilidad y uniformidad en poder de penetración en los tejidos (Mba y Shu, 2012).

### **1.2.2. Efecto de la radiación gamma en las plantas**

En términos generales, la radiación gamma provoca daños en el ADN, así como disturbios fisiológicos y bioquímicos en la célula de las plantas; el nivel de daño está asociado generalmente a la dosis de radiación gamma (Lagoda, 2012; Raghuvanshi y Singh, 1977).

Yamaguchi (2008) reporta que altas dosis de radiación gamma provocan una reducción de la cantidad de ADN nuclear de la célula de plantas de Crisantemo. En este sentido, Kahrizi *et al.* (2012) encontraron que los genomas de mayor tamaño de genotipos de rosas (*Rosa hybrida*) fueron afectados significativamente por la radiación gamma en relación a los genomas de menor tamaño.

Respecto a los cromosomas, la radiación gamma provoca daños directos en el ADN que forman aberraciones cromosómicas, o a través de la interacción con las partículas de agua que generan especies de oxígeno reactivo (Marcu *et al.*, 2013). Ramesh y Verma (2015), reportan un incremento de aberraciones cromosómicas con el aumento de la dosis de radiación gamma en células en metafase mitótica de *Phlox drummondii*, tales como cromosomas dicéntricos, tricéntricos, traslocaciones, anillos, deficiencias y fragmentos acéntricos. En términos genéticos, el grado de la radio-susceptibilidad del material genético a los rayos gamma, se ha atribuido a factores como el genotipo, contenido de ADN, nivel de ploidía y fase del ciclo celular (Kahrizi *et al.*, 2012; Lagoda, 2012; Raghuvanshi y Singh, 1977).

La radiación gamma de forma directa o a través de las especies de oxígeno reactivo, provocan un disturbio funcional o inhibición de macromoléculas vitales como hormonas de crecimiento (auxinas), proteínas y lípidos. Lagoda (2012), indica que la radiación gamma destruye muchas enzimas, que resultan en una baja división celular y crecimiento de la planta.

En función de la dosis de radiación gamma y la precisión de la reparación del ADN, las plantas pueden presentar un amplio rango de cambios fisiológicos, bioquímicos y morfológicos positivos o negativos. En los daños severos al genoma, las plantas no sobreviven, sin embargo, en dosis

óptimas, estos presentan variación y mejores características agroindustriales, y en dosis altas, pero no letales, la presencia de individuos amorfos.

### **1.2.3. Radiosensibilidad**

Lagoda (2012), define la radiosensibilidad como la sensibilidad relativa de un organismo, órgano, tejido o célula al efecto dañino de las radiaciones ionizantes. Los resultados obtenidos de estudios de radiosensibilidad en diferentes especies, indican que existe una respuesta diferencial aún entre variedades de la misma especie (Olasupo *et al.*, 2016; Horn y Shimelis, 2013; Magori *et al.*, 2010) y entre individuos sometidos a la misma dosis en la generación M1 (Kodym *et al.*, 2012). En términos genéticos, la radiosensibilidad depende del genotipo, cantidad de ADN, nivel de ploidía y fase del ciclo celular de aplicación (Kahrizi *et al.*, 2012; Lagoda, 2012; Raghuvanshi y Singh, 1977). No obstante, el contenido de humedad también juega un papel importante en la respuesta radio-sensible a los rayos gamma, ya que la interacción de ésta con las moléculas de agua produce especies de oxígeno reactivo, los cuales interactúan con macromoléculas vitales provocando, en casos severos la inhibición funcional de las mismas.

Con base en la respuesta radiosensible del genotipo a la radiación gamma, se estima la dosis que provoca la reducción de 30 a 50 % la germinación y sobrevivencia de plantas M1 (DL<sub>30-50</sub>) y la dosis que reduce de 30 a 50 %, el crecimiento y la producción de semillas de plantas M1 (GR<sub>30-50</sub>) (Kodym *et al.* 2012). La importancia de la estimación de estos parámetros se debe a que han sido relacionados con las dosis que permiten generar variación genética en el genotipo de interés (Mba *et al.*, 2010).

Por otra parte, en algunas especies de plantas hortícolas y forestales, como tomate y *Abies religiosa*, los estudios de radiosensibilidad se han dirigido a la determinación de las dosis que estimulan la germinación y el crecimiento inicial (Iglesias-Andreu *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2006).

Aunado a la determinación de la  $DL_{30-50}$  y  $GR_{30-50}$ , se establecen las regiones de radiosensibilidad del genotipo de interés a los rayos gamma. Estas tres regiones radiosensibles son: estimulación, transición e inhibición. La región de radio-estimulación se refiere al intervalo de dosis que promueven el valor de la variable de respuesta, en relación al control. La región de transición, se considera a partir de la última dosis de estimulación hasta la  $DL_{50}$  o  $GR_{50}$ . Mientras, la región de inhibición se considera a partir de las dosis que provocan una reducción o mortalidad superior al 50 % (Ramírez *et al.*, 2006).

Las variables de mayor uso para la estimación del daño de plantas en la generación M1 por efecto de la radiación gamma son la germinación, sobrevivencia de plantas, altura de planta, número de hojas, longitud de raíz, número de flores, número de semillas o frutos por planta (Kodym *et al.*, 2012). En términos generales, se ha observado una correlación negativa de la variable respuesta con el aumento de la dosis de radiación gamma.

En diversos estudios, dosis bajas provocan una estimulación en la germinación de semillas, mientras que, a partir de éstas, se presentan tendencias definidas de reducción. Marcu *et al.* (2013) reportan que a dosis de 50 Gy, tienen un efecto significativo en el incremento en la germinación total y en la velocidad de germinación de semillas de maíz híbrido Turda Star (20 y 35 % más en comparación con el control). Mientras, los resultados obtenidos por Pavadai (2015)

presentan tendencias definidas de disminución de la germinación de semillas de soya variedad Co-1 por el efecto de la radiación gamma a dosis de 100 a 1000 Gy.

La sobrevivencia de plantas es el indicador de mayor uso para la estimación de la  $DL_{30-50}$  que se relaciona con la dosis que puede generar variación genética. Esto debido a que, aun cuando en dosis altas se observa un alto porcentaje de germinación, las plántulas no sobreviven. En este sentido, Gálvez *et al.* (2017) encuentran diferencia no significativa en la germinación de semillas de soya de la variedad Huasteca 100 en dosis de 620 y 1250 Gy en comparación con el control, sin embargo, en estas dosis el 100 % de plántulas no sobreviven debido al daño provocado por la radiación gamma; además observaron la ausencia de emisión de hojas unifoliadas para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis.

También se ha reportado un incremento de la mortalidad de plantas en relación con el aumento de la dosis de radiación gamma en *Canscora decurrens* (Yadav, 2016), *Citrus reticulata* cv. Limau Madu (Agisimanto *et al.*, 2016), *Trichosanthes anguina* L. (Sidhya y Pandit, 2015) y en soya variedad Huasteca 100 (Gálvez *et al.*, 2017).

La altura de planta es la variable de mayor uso para referencia de la  $GR_{30-50}$ . De igual forma que en germinación, dosis bajas estimulan valores superiores de altura de planta en comparación con el control, mientras que, a partir de éstas se observa una tendencia hacia valores inferiores en altura con el aumento de la dosis de radiación gamma. Ramírez *et al.* (2006) encontraron que a dosis de 5 a 75 Gy, valores superiores de altura de planta de cuatro variedades de tomate en comparación con el tratamiento control, mientras que, a partir de 75 Gy hasta 400 Gy determinaron la región de transición. Sin embargo, tendencias definidas hacia valores inferiores

de altura de planta con el incremento de la radiación gamma, se han observado en otras especies como los genotipos de arroz Ashfal y Binadhan-14 (Rani *et al.*, 2016), en pimiento morrón (Sood *et al.*, 2016) y en *Vigna unguiculata* accesión IB-BPC (Olasupo *et al.*, 2016).

Para las plantas de reproducción sexual, la producción de semilla por planta es una variable importante, toda vez que ésta dará origen a la segunda generación de mutación. En términos generales se observa una correlación negativa entre el número de semillas producidas con el incremento de la dosis de radiación gamma. Mudibu *et al.* (2012), en los materiales de soya Kitoko, Vuangi y TGX 814-49 en dosis de 400 Gy, muestran una producción de semillas inferior al 50 % comparado con el control. Sin embargo, la nula producción de semillas en las plantas de soya se debe a la formación de inflorescencias improductivas, es decir no formaron vainas (Aminah *et al.*, 2015).

#### **1.2.4. Ajuste de modelos estadísticos para la estimación de la DL<sub>30-50</sub> y GR<sub>30-50</sub>**

La estimación de la DL<sub>30-50</sub> y GR<sub>30-50</sub>, se puede llevar a cabo mediante los parámetros de los modelos de regresión con ajuste superior al 60 %. Debido a que la tendencia de una variable está en función del incremento de la dosis de radiación gamma no es estrictamente lineal, es necesario conocer la tendencia de la misma para evaluar los modelos que presenten similitud en dicho comportamiento. Entre los modelos de estudio para la radiosensibilidad están regresión lineal simple, cuadrática I y II, exponencial negativa y polinomial (Gálvez *et al.*, 2017; Pavan-Kumar *et al.*, 2013).

Los parámetros de mayor uso para el ajuste de los modelos de regresión lineal son el coeficiente de determinación simple y ajustada (esto para el caso de una o más variables en el modelo). Otra



prueba estadística que permiten precisar el ajuste del modelo, es la prueba de falta ajuste (Lakfit). En dicha prueba, el valor de P permite identificar la falta de ajuste del modelo; cuando el valor de P no es significativo, el modelo presenta un buen ajuste y por lo tanto una mejor estimación de los parámetros del modelo.

Cuando se evalúan diferentes modelos que presentan valores aceptables de coeficiente de determinación simple o ajustado y presentan diferencia no significativa en la prueba de falta de ajuste, la prueba de CP de Mallows ó el Criterio de Información de Akake (AIC) (Guerra *et al.*, 2003), permiten elegir el mejor modelo con base en el menor valor reportado por dichas pruebas; esto a través del número de parámetros del modelo y el valor máximo de verosimilitud.

Seleccionado el mejor modelo, el cálculo de la  $DL_{30-50}$  o  $GR_{30-50}$  se realizará de acuerdo con los parámetros del modelo. Para el caso de regresión lineal simple, se utiliza la ecuación:  $GR_{50} = (Vmt * 0.5) - \beta_0 / \beta_1$ ; y para regresión cuadrática I,  $GR_{50} = \text{Raíz} [(Vmt * 0.5) - \beta_0 / \beta_1]$ , donde:  $GR_{50}$ = Dosis de reducción media de altura de planta;  $Vmt$ =Valor máximo de altura de planta del testigo (sin irradiar);  $\beta_0$ = parámetro del modelo, ordenada al origen; y  $\beta_1$ = parámetro del modelo, pendiente de la recta. Estas ecuaciones pueden utilizarse para la estimación de la  $DL_{30-50}$ ; la variante para la reducción del 30 %, es que el valor máximo se multiplica por 0.7.

Para el caso particular de regresión Cuadrática II, puede realizarse mediante la fórmula general:  $-b \pm \text{raíz} (b^2 - 4ac) / 2a$ , donde el valor de  $\beta_0$  es igual a la variable c (en esta variable el valor de  $\beta_0$  se multiplica por 0.7 o 0.5 para la estimación de  $DL_{30-50}$ , respectivamente),  $\beta_1$  se refiere a la variable b y  $\beta_2$  es la variable a; otra forma es mediante exploración con los parámetros estimados en una

hoja de cálculo de Excel. Para los casos de exponencial negativa y polinomial, se puede realizar mediante exploración a través de sus parámetros estimados.

Otra forma de estimar los valores de  $DL_{30-50}$  o  $GR_{30-50}$ , es a través de regresión logística o regresión probit, lo cual puede realizar en varios programas estadísticos.

Cualquier método a utilizar será más confiable si se cuenta con un número de repeticiones mayor a tres, ya que, debido a la naturaleza de la radiación gamma, se puede observar un efecto diferencial, aún entre plantas derivadas de semillas sometidas a una misma dosis. Así como, realizar las pruebas de radiosensibilidad en condiciones controladas, para poder discernir en mayor grado el efecto de la dosis de radiación gamma o cualquier otro mutágeno utilizado.

#### **1.2.5. Mejoramiento genético asistido por mutagénesis inducida: caso radiación gamma**

La inducción de mutaciones se puede realizar principalmente bajo el esquema del uso de la dosis óptima de radiación gamma  $\pm 5\%$  (Pavadai, 2010), o mediante el uso de varias dosis en un amplio rango con intervalos constantes (Tambe y Apparao, 2009); generalmente se considera el valor máximo como la dosis donde la planta aún produce semilla o hasta donde sobreviven las plantas para el caso de reproducción asexual. Para el primer esquema, uso de la dosis óptima de radiación gamma, se utiliza una población grande y en el segundo caso, de uso de varias dosis en un amplio rango, se han utilizado desde 300 hasta 500 individuos por dosis.

El proceso de inducción de mutaciones inicia con la irradiación del material experimental que pueden ser semillas, cormos, estacas, embriones somáticos, yemas, etc., a una dosis o diferentes dosis de radiación gamma seleccionadas. Antes del proceso de irradiación el material

experimental se codifica como  $M_0$ , posterior a la irradiación es  $M_1$ , es decir primera generación de mutación. Luego se siembra la población  $M_1$ , donde se tiene que evitar la polinización cruzada en el caso de las plantas alógamas y en autógamas, de las cuales se tiene conocimiento que presentan un alto porcentaje de polinización cruzada. Las semillas obtenidas de las plantas se codifican como semillas  $M_2$ , éstas darán origen a la población  $M_2$ , segunda generación de mutación. Debido a que la mayoría de las mutaciones (>90 %) son recesivas, en la generación  $M_2$ , se puede detectar los mutantes potenciales mediante un cribado específico de acuerdo al objetivo del programa de mejoramiento. Por lo tanto, un método para la siembra de la generación  $M_2$  es la de surco por progenie de planta individual (Tambe y Apparao, 2009); en algunos casos se han utilizado el método a granel.

Una vez seleccionados los mutantes con las características deseadas estos pasan a la siguiente generación. Las semillas  $M_3$  son establecidas bajo el método de surco por progenie de planta individual. En esta generación se realiza la evaluación e identificación de familias e individuos dentro de familias que presentan características agroindustriales de interés en el programa de mejoramiento, las cuales darán origen a la generación  $M_4$ .

Las semillas  $M_4$  se establecen en campo y mediante el cribado correspondiente se evalúa la estabilidad del carácter o caracteres de plantas requeridos por el programa de mejoramiento. En esta generación si las líneas o individuos seleccionados presentan las características idóneas, pasan a multiplicación de semilla y la evaluación en múltiples localidades; caso contrario de contar con un carácter específico, esta pasa ser una línea donante de dicho carácter para hibridación. Finalmente, con la certeza de que se tiene un material altamente homocigoto, se procede al registro de la nueva variedad mutante (Figura 1).

Otro esquema de mejoramiento genético asistido por mutagénesis es mediante el uso de radiación recurrente, el cual difiere del método antes descrito, por la irradiación de las semillas M2 a una dosis de radiación específica. Posterior a ello, el esquema de mejoramiento es similar.

Para el caso de las plantas que se propagan de forma asexual, la notación son  $V_1M$ ,  $V_2M$ ,  $V_3M$ ... hasta  $V_nM$ , donde  $V_n$  se refiere a la generación vegetativa consecutiva. Para los casos de cultivo *in vitro*, es necesario el cambio del medio del cultivo después de la irradiación debido a que la radiación gamma ha provocado cambios en ella, los cuales afectan la supervivencia del propágulo. Al igual que el esquema anterior, bajo un cribado específico se selecciona el individuo o yema con las características de interés del programa de mejoramiento, para la multiplicación masiva y registro de la variedad mutante ante la Instancia Gubernamental correspondiente.

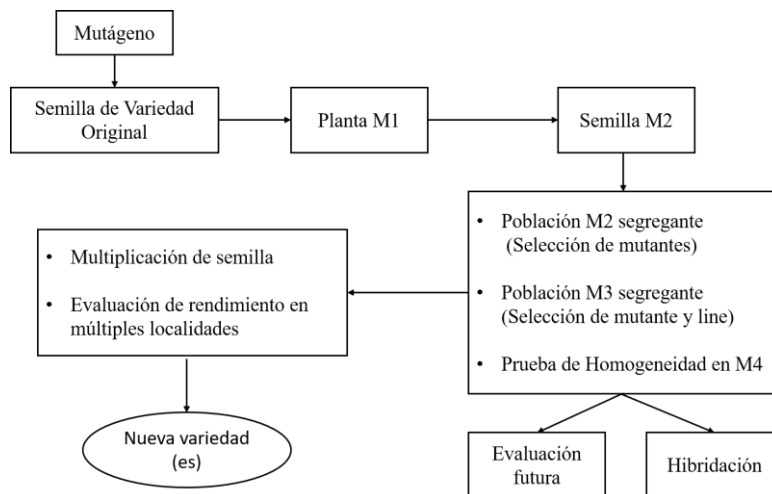


Figura 1. Método de mejoramiento genético por mutaciones (Oladosu *et al.*, 2016).

### 1.2.6. Mejoramiento genético de soya asistido por mutagénesis

El uso de la mutagénesis como herramienta de un programa de mejoramiento genético de soya, ha permitido con éxito, la obtención de variedades mutantes con características sobresalientes de rendimiento (Malek *et al.*, 2014), incremento del contenido de aceite en el grano, así como líneas mutantes con genes de interés agroindustrial (Manjaya, 2009), los cuales han contribuido sustancialmente el abastecimiento de grano y la calidad demandada por el consumidor. La inducción de las mutaciones en diversos genotipos de soya se ha realizado con éxito en un amplio rango de dosis que van desde 100 Gy hasta 500 Gy.

Entre las variedades y líneas mutantes de soya con caracteres sobresalientes de rendimiento, de menor a mayor dosis de radiación gamma, se encuentran:

- La variedad mutante Ryohou, resultado de la hibridación de una línea mutante y la variedad mutante Raiden obtenida de la irradiación de semillas a 100 Gy, cuyo principal atributo fue excelente resistencia a insectos y alto rendimiento (FAO/IAEA, Base de datos de variedades mutantes).
- Las variedades Héctor y Esperanza del INIFAP, las cuales se derivaron de la irradiación de semillas de la variedad Suaqui E-2-1-M y E-1-1-M a 150 Gy, cuya característica principal fue la resistencia al ataque de mosquita blanca y alto rendimiento (Castillo-Torres *et al.*, 1998).
- La variedad Salcer, la cual se desarrolló mediante la exposición recurrente de semillas de la variedad ISAAEG-BM2 a 200 Gy de rayos gamma; esta variedad mostró incremento

de la altura a la primera vaina, mayor rendimiento de grano (4.47 t ha<sup>-1</sup>) y forraje para las condiciones de Iguala, Guerrero.

- Khang *et al.* (2007) desarrollaron la variedad de soya de alto rendimiento Bangsakong derivada de la irradiación de CB-27 a 250 Gy, que presentó 15 % más de rendimiento de grano comparado con la variedad elite Jangyeopkong (2.58 y 2.24 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente).
- Tambe y Apparao (2009) encontraron en la generación M2 en dosis de 300 Gy, mutaciones inducidas para caracteres que contribuyen al rendimiento de soya variedad MACS-450; asimismo, la identificación de un mutante con un rendimiento superior al original en 247 %.

### 1.3. LITERATURA CITADA

**Agisimanto D., N. M. Noor, R. Ibrahim and M. Mohamad (2016)** Gamma irradiation effect on embryogenic callus growth of *Citrus reticulata* cv. Limau Madu. Sains Malaysiana 45: 329-337.

**Ali N. (2010)** Soybean Processing and utilization. *In: The soybean: botany, production and uses.* G.Singh. (ed) CAB International. UK. pp:1-23.

**Aminah, A. Nur, Abdullah, N. Tahir, Edy and Nuraeni (2015)** Improving the genetic diversity of soybean seeds and tolerance to drought irradiated with gamma rays. *Int. J. Curr. Res. Aca. Rev.* 3:105-113.

**Bo-Keun H., K. J. Lee, V. Velusamy, J. B. Kim, S. H. Kim, J. W. Ahn, S. Y. Kang and D. S. Kim (2014)** Improvement of soybean through radiation-induced mutation breeding

techniques in Korea Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization 12(S1): S54–S57.

**Castillo-Torres N., L. Montoya-Coronado, A. García-Bernal, F. J. Navarro-Sandoval y F. G. Rodríguez-Cota (1998)** Héctor y Esperanza: variedades de soya para el Noroeste de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle del Yaqui. Sonora, México. 20 p.

**Cortez-Mondaca E., J. Pérez-Márquez, F. G. Rodríguez-Cota, José Luis Martínez-Carrillo y Lidnih (2013)** Rendimiento y respuesta de variedades de soya a mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn.) en tres fechas de siembra. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4: 1067-1080.

**Crispín M. A. y S. C. Barriga (1970)** El cultivo de la soya en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México. 15 p.

**FAO/IAEA (2016)** Mutant Variety Database. <http://mvgs.iaea.org> (Consultado en mayo de 2017).

**FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistical Database (2016)** Statistical Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Consultado el 06 de julio de 2017).

**Foster B. P. and Q. Y. Shu (2012)** Plant mutagénesis in crop improvement: Basic terms and applications. In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa H. (Eds), Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna, pp: 9-20.

**Gálvez-Marroquín L.A., C. H. Avendaño-Arrazate, M. Alonso-Báez, J. J. Maldonado-Méndez, Y. Gómez-Simuta, S. Ortiz-Curiel y A. J. Verdugo-Velázquez (2017)** Radiosensitivity on Huasteca-100 Soybean Seeds Variety with <sup>60</sup>Co Gamma Radiation. Int. J. Curr. Res. Aca. Rev. 5:19-25. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2017.505.004>

- Grajales S. M., M. Alonso-Báez, J. F. Aguirre-Medina, G. Fraire-Vázquez, R. Reza-Alemán y F. De León-Espinosa (2006)** El Cultivo de la soya (*Glycine max* L. Merrill) de temporal en Chiapas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Pacífico Sur. Campo Experimental Rosario Izapa. Libro técnico No. 1. Chiapas, México. 229 p.
- Guerra, W. Caridad, A. Cabrera, Fernández y Lucía (2003)** Criterios para la selección de modelos estadísticos en la investigación científica. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 37: 3-10.
- Hinchee M. A., D. V. Connor-Ward, C. A. Newell, R. E. McDonell, S. J. Sato, C. S. Gasser, D. A. Fishhoff, D. B. Re, R. T. Fraley and R. B. Horsch (1988)** Production of transgenic soybean plants using *Agrobacterium*-mediated DNA transfer. *Bio/Technol.* 6: 915–922.
- Horn L. and H. Shimelis (2013)** Radio-sensitivity of selected cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes to varying gamma irradiation doses. *Scientific Research and Essays* 8: 1991-1997.
- Iglesias-Andreu L. G., L. R. Sánchez-Velásquez, Y. Tivo-Fernández, M. Luna-Rodríguez, N. Flores-Estévez, J. C. Noa-Carrazana, C. Ruiz-Bello y J. L. Moreno-Martínez (2010)** Efecto de radiaciones gamma en *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 16(1): 5-12.
- Kahrizi Z. A., M. J. Kermani and M. Amiri (2012)** Effect of gamma rays on nuclear DNA content in different rose genotypes. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 3: 1155-1160.
- Kang S. Y., D. S. Kim and G. J. Lee (2007)** Genetic improvement of crop plants by mutation techniques in Korea. *Plant Mutation Reports* 1: 7-15.



- Kangarasu S., S. Ganeshram, and A. J. Joel (2014)** Determination of lethal dose for gamma rays and Ethyl Methane Sulphonate induced mutagenesis in cassava (*Manihot Esculenta* Crantz.). International Journal of Scientific Research 3: 3-6.
- Khan M. H. and S. D. Tyagi (2010)** Induced morphological mutants in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. Front. Agric. China 4:175-180.
- Kharade M. R., S. V. Yamgar and A. R. Phadtare (2015)** Studied on effect of mutagenesis in groundnut to induce variability in seed quality parameters (*Arachis Hypogaea* L.). IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science 8(7): 01-07.
- Kharkwal M. C. and Q. Y. Shu (2009)** The role of induced mutations in world food security. In: Shu, Q. Y. (Ed), Induced plant mutations in the genomics era. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp: 33-38.
- Kodym A., R. Afza, B. P. Forster, Y. Ukai, H. Nakagawa and C. Mba (2012)** Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. In: Shu, Q.Y., Forster, B.P. and Nakagawa, H. (Eds.), Plant Mutation Breeding and Biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 169-180.
- Kumudini S. (2010)** Soybean growth and development. The origin and history of soybean. In: The soybean: botany, production and uses. G.Singh. (ed) CAB International. UK. pp: 48-73.
- Lagoda P. J. L. (2012)** Effects of radiation on living cells and plants. In: Shu, Q.Y., Forster, B. P. and Nakagawa, H. (Eds.), Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 123-134.

- Leitão J. M. (2012)** Chemical mutagenesis. *In:* Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa H. (Eds), Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 135-158.
- Luna J. A. D. (2007)** Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* 37: 35-44.
- Magori S., A. Tanaka and M. Kawaguchi (2010)** Physically induced mutagenesis: Ion beam mutagénesis. *In:* The Handbook of Plant Mutation Screening: Mining of Natural and Induced Alleles. G. Kahl and K. Meksem (eds). Copyright, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. pp. 5-15.
- Maldonado-Moreno N. y G. Ascencio-Luciano (2010)** Huasteca 100, Variedad de soya para el Sur de Tamaulipas y Trópico de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5: 699-705.
- Maldonado-Moreno N. y G. Ascencio-Luciano (2014)** Huasteca 600, variedad de soya para el sur de Tamaulipas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Noreste. Campo Experimental Las Huastecas. Folleto técnico. Tamaulipas, México. 26 p.
- Malek M. A., M. Y. Rafii, M. S. S. Afroz, U. K. Nath and M. M. A. Mondal (2014)** Morphological characterization and assessment of genetic variability, character association, and divergence in soybean mutants. *The Scientific World Journal* 1-12. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/968796>.
- Manjaya J. G. (2009)** Genetic improvement of soybean variety VLS-2 through induced mutations. *In:* Induced plant mutations in the genomics era. Shu Q. Y. (ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp: 106-110.

- Marcu D., G. Damian, C. Cosma and V. Cristea (2013)** Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*). J. Biol. Phys. 39: 625-634.
- Mba C. and Q. Y. Shu (2012)** Gamma radiation. In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa H. (Eds), Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 91-98.
- Mba C., R. Afza, S. Bado and S. M. Jain (2010)** Induced mutagenesis in plants using physical and chemical agents. In: Plant Cell Culture, M. R. Davey and P. Anthony (Eds). John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. pp: 111-130.
- Mudibu J, K. K. C. Nkongolo, A. Kalonji-Mbuyi and R. V. Kizungu (2012)** Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). American Journal of Plant Sciences 3: 331-337.
- Oladosu Y., M. Y. Rafii, N. Abdullah, G. Hussin, A. Ramli, H. A. Rahim, G. Miah and M. Usman (2016)** Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. Biotechnology & Biotechnological Equipment 30: 1-16. DOI: 10.1080/13102818.2015.1087333.
- Olasupo F. O., C. O. Ilori, B. P. Forster and S. Bado (2016)** Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). American Journal of Plant Sciences 7: 339-351.
- Pavadai P (2015)**. Studies on quantitative characters for gamma rays treatment in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) var. Co-1. International Journal of Modern Cellular and Molecular Biology 4: 1-10.

- Pavadai P., M. Girija and D. Dhanavel (2010)** Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M2, M3 and M4 Generation. *Journal of Experimental Sciences* 1: 08-11.
- Pavan-Kumar D., A. Chaturvedi, M. Sreedhar, M. Aparna, P. Venu-Babu and R. K. Singhal (2013)** Gamma radiosensitivity study on rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant Science and Research* 3(1):54-68.
- Pooja K. and R. Srivastava (2015)** Induction of genetic variability and isolation of mutants in tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *Tropical Agricultural Research* 26: 721-732.
- Qiu L. J. and R. Z. Chang (2010)** The origin and history of soybean. *In: The soybean: botany, production and uses.* G.Singh. (ed) CAB International. UK. pp:1-23.
- Raghuvanshi S. S. and D. N. Singh (1977)** Comparative radiosensitivity of diploid and autotetraploid *Trigonella foenum-graecum* L. to gamma rays. *Caryologia* 30: 411-421.
- Ramesh A. and R. C. Verma (2015)** Effect of gamma radiation on chromosome at mitotic division in *Phlox Drummondii*. *International Research Journal of Biological Sciences* 4: 82-85.
- Ramírez R., L. M. González, Y. Camejo, N. Zaldívar y Y. Fernández (2006)** Estudio de radiosensibilidad y selección del rango de dosis estimulantes de rayos X en cuatro variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales* 27(1): 63-67.
- Rani M. H., M. Kamruzzaman, A. M. A. Ghanim, M. A. K. Azad and M. B. Akter (2016)** Comparative effect of gamma and X-ray irradiations on some characters of rice seedlings of Ashfal and Binadhan-14. *Journal of Bioscience and Agriculture Research* 8: 739-745.
- Rathore J., G. R. Lavanaya, N. Kumar and O. P. Khedar (2014)** Evaluation of gamma rays induced genetic variability and divergence in M3 generation of mungbean. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 3(1): 161-164.

- Salgado J. M. and C. M. Donado-Pestana (2011)** Soy as a functional food. In: El-Shemy, H. (Ed.), Soybean and Nutrition. ISBN: 978-953-307-536-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/soybean-and-nutrition/soy-as-a-functional-food>.
- Scaboo A. M., P. Chen, D. A. Sleper and K. M. Clark (2010)** Classical breeding and genetics of soybean. *In: Genetics, genomics, breeding of soybean*. K. Bilyeu, M. B. Ratnaparkhe, C.Kole (eds). Science Publishers, USA. pp: 19-54.
- SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2016)** Balanza comercial agroalimentaria Enero-Junio 2016. [http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/sagarpa/Documents/2016\\_08\\_18\\_Balanza\\_Agroalimentaria\\_enero\\_junio\\_EU.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/sagarpa/Documents/2016_08_18_Balanza_Agroalimentaria_enero_junio_EU.pdf)
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2016)** Producción Agrícola. Avance de siembras y cosechas. Resumen Nacional por Cultivo. <http://www.gob.mx/siap> (Accesado en febrero de 2017).
- SNICS, Servicio Nacional de Certificación e Inspección de Semillas (2017)** Catálogo Nacional de Variedades Vegetales. <http://www.gob.mx/snics> (Accesado el 6 de julio de 2017).
- Shida P. and M. K. Pandit (2015)** Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays in snake gourd (*Trichosanthes anguina* L.). *Journal of Applied and Natural Science* 7: 649-651.
- Sonone N. G., S. N. Deshmukh, S. B. Lanjewar and R. L. Bhakre (2010)** Induced variability in quantitative characters of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding* 1:1409-1414.
- Sood S., S. J. Jambulkar, A. Sood, N. Gupta, R. Kumar and Y. Singh (2016)** Median lethal dose estimation of gamma rays and ethyl methane sulphonate in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *SABRAO J. Breed. Genet.* 48: 528-535.

- Tambe A. B. and B. J. Apparao (2009)** Gamma-ray induced mutations in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] for yield-contributing traits. In: Induced plant mutations in the genomics era. Shu Q. Y. (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp: 95-96.
- Tulmann-Neto A. and M. C. Alves (1997)** Induction of mutations for earliness in the soybean cultivar Paraná. Braz. J. Genet. 20(1). <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-84551997000100009>.
- Usharani K. S. and C. R. Ananda-Kumar (2015)** Induced polygenic variability using combination treatment of gamma rays and ethyl methane sulphonate in blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). African Journal of Biotechnology 14(20): 1702-1709.
- Vũ D. H. and Đ. H. Nguyễn (2012)** Mutagenic induction of agronomical and yield contributing traits in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) with gamma irradiation. J. Sci. & Devel. 10(4): 576-585.
- Yadav V. (2016)** Effect of gamma radiation on various growth parameters and biomass of *Canscora decurrens* Dalz. International Journal of Herbal Medicine 4: 109-115.
- Yamaguchi H., A. Shimizu, Y. Hase, A. Tanaka, N. Shikazono, K. Deni and T. Morishita (2010)** Effect of ion vean irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in *Chrysanthemum*. Breeding Science 60: 398-404.

## **CAPITULO II. RADIOSENSIBILIDAD DE SOYA GENOTIPO H10-2416 Y VARIEDAD HUASTECA 400 A RADIACIONES DE Co<sup>60</sup>**

### **2.1. Resumen**

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la radiosensibilidad de semillas de soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400 a los rayos gamma Co<sup>60</sup>. Las semillas fueron sometidas a 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 Gy en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). Con las semillas irradiadas se estableció el experimento en campo, bajo un diseño bloques completamente al azar en arreglo factorial con cuatro repeticiones. Se evaluó la germinación, sobrevivencia, altura y número de semillas por planta. La DL<sub>30</sub> y GR<sub>30</sub> se determinaron mediante modelos de regresión lineal. Los resultados, con excepción de la germinación de H10-2416, mostraron correlación negativa entre las variables y dosis. En Huasteca 400, la DL<sub>30</sub> para germinación y sobrevivencia se estimó en 298 y 372 Gy, respectivamente, mientras en H10-2416, la sobrevivencia se predijo en 557 Gy. La GR<sub>30</sub> de altura y número de semillas en Huasteca 400 se estimó en 368 y 141 Gy; mientras que en H10-2416, la dosis estimada fue de 414 y 241 Gy, respectivamente. Con base en la GR<sub>30</sub>, las dosis de 368 y 414 Gy  $\pm$  5 % pueden ser útiles para inducir variación genética en soya Huasteca 400 y H10-2416.

**Palabras clave:** *Glycine max*, radiación gamma, radiosensibilidad, DL<sub>30</sub>, GR<sub>30</sub>.

## 2.2. Abstract

Objective of this study was to evaluate radiosensitivity of soybean seeds genotype H10-2416 and Huasteca 400 variety to  $^{60}\text{Co}$  gamma rays. Seeds were subjected to 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 Gy at Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ). Experiment was established under a completely randomized blocks design under a factorial arrangement with four replications. Germination, survival, plant height and number of seeds per plant were evaluated variables.  $\text{LD}_{30}$  and  $\text{GR}_{30}$  were determined through linear regression. Results, except for germination in H10-2416, exhibited a negative correlation among evaluated variables and doses. For Huasteca 400,  $\text{LD}_{30}$  for germination and survival was estimated in 298 and 373 Gy respectively, while for H10-2416, survival was predicted at 557 Gy.  $\text{GR}_{30}$  for plant height and number of seeds in Huasteca 400 was estimated at 368 and 141 Gy; while for H10-2416, estimated doses were 414 and 241 Gy, respectively. Based on  $\text{GR}_{30}$ , doses of 368 and 414 Gy  $\pm$  5 % can be useful to induce genetic variability on soybean Huasteca 400 and H10-2416.

**Keywords:** *Glycine max*, gamma radiation, radiosensitivity,  $\text{LD}_{30}$ ,  $\text{GR}_{30}$ .



### 2.3. Introducción

La soya (*Glycine max* L. Merrill) es una leguminosa importante para el mundo por el contenido y calidad de proteína y aceite en su grano. Además, contiene diversos compuestos fitoquímicos que se han relacionado con efectos benéficos para la salud humana, por lo que se categoriza como alimento funcional [1].

En México se produce soya en una superficie de 280,126.31 ha, de donde se obtienen 509,113.62 toneladas de grano, cantidad que sólo abastece 3 % de la demanda nacional; lo faltante se importa principalmente de Estados Unidos y Brasil. Chiapas ocupa el sexto lugar a nivel nacional en superficie sembrada con soya (12,872.2 ha). El 98 % de dicha superficie se localiza en la región Soconusco [2]. En la superficie sembrada con soya en la región del Soconusco se utiliza variedades como Luziânia y Valiosa con rendimientos de 2.78 t ha<sup>-1</sup>, Huasteca 100 y 200 con 2.95 y 2.58 t ha<sup>-1</sup>. Una forma de minimizar las exportaciones de grano de soya, es incrementar el rendimiento por unidad de superficie en líneas genéticas adaptadas a la región. El mejoramiento genético en esta región se realiza principalmente por selección de líneas puras provenientes del Campo Experimental Las Huastecas dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El genotipo H10-2416 y la variedad Huasteca 400 son algunos materiales genéticos que han presentado adaptabilidad a las condiciones de clima y suelo de la región Soconusco, con rendimientos de 3.3 y 2.6 t ha<sup>-1</sup>, así como baja y media sensibilidad al fotoperiodo, respectivamente. Al igual que en otras especies vegetales, una alternativa para incrementar los rendimientos en soya y así contribuir en la reducción de importación de grano, es mediante la mutagénesis inducida, misma que ofrece la ventaja, de

obtener materiales con buenas características de rendimiento en un menor lapso de tiempo que con los métodos convencionales de mejoramiento genético [3, 4].

El uso de la mutagénesis inducida ha permitido la generación de mutantes de uso indirecto o directo que han contribuido a la seguridad alimentaria mundial [5]. En la base de datos de variedades mutantes de la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA), se reporta más de 3200 variedades de uso comercial en más de 210 especies de plantas desarrolladas en más de 70 países. La mayoría de estas variedades se han desarrollado principalmente en cereales (49.5 %), flores/ornamentales (21.9 %) y leguminosas (15 %) [6]. En el caso de la soya, se han desarrollado variedades de alto rendimiento como Bangsakong derivada de la irradiación de CB-27 a 250 Gy, que presentó 15 % más de rendimiento de grano comparado con la variedad elite Jangyeopkong (2.58 y 2.24 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente) [7]. Asimismo, Kim *et al.* [8] encontraron ocho líneas mutantes con diferente actividad inhibitoria de tripsina Kunitz en relación con el control. Por su parte, Sebastian *et al.* [9] reportan la obtención de un mutante de alto grado de resistencia al herbicida clorosulfuron derivada de semillas expuestas a N-nitroso-N-metil urea y etil metano sulfonato. Mientras, Castillo-Torres *et al.* [10] desarrollaron las variedades de soya Héctor y Esperanza del INIFAP, obtenidas de la irradiación de semillas de la variedad Suaqui E-2-1-M y E-1-1-M a 150 Gy, cuyas características principales fueron la resistencia al ataque de mosquita blanca y rendimiento superiores al testigo regional variedad Cajeme de 20 %, respectivamente.

La mutagénesis inducida se realiza con mutágenos químicos y físicos [10]. La radiación gamma es el mutágeno de mayor uso en el mejoramiento de plantas, ya que permite generar mutaciones múltiples en el genoma de interés por su interacción directa e indirecta con el ADN, las cuales se pueden detectar en la generación M2. Se reporta que la mayoría de las mutaciones recesivas se

forman en el rango de 90-100 % [3]. Sin embargo, para iniciar un programa de mejoramiento asistido por mutagénesis inducida es esencial determinar la dosis óptima del mutágeno que permita generar con mayor frecuencia mutaciones deseables en el material genético objetivo, con el mínimo de efectos no deseados. Kodym *et al.* [11] reportan que esta dosis está relacionada con la DL<sub>30-50</sub> (dosis que provoca la reducción de 30 a 50 % la germinación y sobrevivencia de plantas M1) o RD<sub>30-50</sub> (dosis que reduce de 30 a 50 %, el crecimiento y la producción de semillas de plantas M1). Los resultados obtenidos de estudios de radiosensibilidad en diferentes especies, indican que existe una respuesta diferencial aún entre variedades de la misma especie [12, 13]. En términos genéticos, la radiosensibilidad depende del genotipo, cantidad de ADN, nivel de ploidía y fase del ciclo celular de aplicación [14,15, 16]. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la radiosensibilidad en semillas de soya, específicamente, genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400 a la radiación gamma Co<sup>60</sup>.

## **2.4. Materiales y métodos**

### **2.4.1. Material genético**

Se utilizaron dos materiales genéticos, cuyas características principales se detallan en el Cuadro 1. La variedad Huasteca 400 se obtuvo de la selección individual del material introducido de Brasil “Dois Marcos 301” [17], mientras que el genotipo H10-2416 se derivó de la selección del cruzamiento de las líneas genéticas H02-2167 x H02-1656.

Cuadro 1. Características agronómicas de la soya Huasteca 400 y H10-2416.

Característica	Materiales genéticos	
	Huasteca 400*	H10-2416
Altura de planta (cm)	80	104.5
Floración (días)	46	54
Período de llenado de grano (días)	57	62
Madurez fisiológica (días)	111	124
Rendimiento promedio (kg ha <sup>-1</sup> )	2 625	3300

\*Fuente: Maldonado *et al.* (2010).

#### 2.4.2. Irradiación del material genético

La irradiación con rayos gamma <sup>60</sup>Co, se realizó en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) ubicado en Ocoyacac, Estado de México, México. El irradiador utilizado fue el Transelektro LGI-01, con una razón de dosis de 16.59 Gy s<sup>-1</sup>. Las dosis de irradiación fueron de 50 Gy hasta 500 Gy, con intervalos de 50 Gy. Las semillas control de cada material genético no fueron irradiadas. En cada tratamiento se utilizaron 100 semillas con un contenido de humedad de 11 % cosechadas del ciclo agrícola otoño-invierno 2015.

#### 2.4.3. Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en campo, en el municipio de Tapachula, Chiapas (14° 51' LN y 92° 19' LO, y altitud de 40 m), en el ciclo agrícola primavera-verano 2016. El suelo del sitio experimental es franco arenoso, pH de 6.86 y contenido de materia orgánica de 5.5 %. Durante el periodo de este estudio, la temperatura promedio fue de 24.9 °C, humedad relativa de 81 % y precipitación pluvial de 1365.8 mm. El diseño experimental utilizado fue bloques completamente al azar en arreglo factorial (genotipo y dosis de irradiación) con cuatro repeticiones. La unidad

experimental se conformó de un surco de 2 m de longitud equivalente a 1.6 m<sup>2</sup> de suelo. La siembra se realizó de forma manual en surcos a distancias de 0.8 m entre líneas y 0.08 m entre plantas, que representa una densidad de población de 156,250 plantas ha<sup>-1</sup>. Se evaluó la germinación, sobrevivencia, altura y número de semillas por planta. El registro de los datos para germinación se realizó a los nueve días después de la siembra (DDS). La sobrevivencia se evaluó al inicio de la floración (R1) a partir del número de plántulas emergidas a los 9 DDS (covariable). La altura de planta se cuantificó a partir de la base del tallo principal hasta el ápice terminal en 5 plantas seleccionadas al azar en 1.2 m lineales del centro del surco. Se cuantificó a partir de los 12 DDS y hasta la fase de inicio de floración (R1) del control. Durante ese período los registros de altura se realizaron a intervalos de 7 días. El número de semillas por planta se cuantificó en la fase de madurez para cosecha, en tres plantas seleccionadas al azar en 1.2 m lineales del centro del surco.

#### **2.4.4. Análisis de datos**

La determinación de la DL<sub>30</sub> y GR<sub>30</sub> se realizó mediante los parámetros de modelos de regresión lineal simple y múltiple. Los criterios considerados para la selección de los modelos fueron: i). El valor mayor del coeficiente de determinación simple o ajustado (R<sup>2</sup> o R<sup>2</sup>-ajustado), ii). Diferencia no significativa en la prueba de falta de ajuste del modelo, y iii). El valor menor del criterio de información de Akaike (AIC).

La evaluación de los modelos, análisis de varianza y covarianza, comparación de medias con la prueba de Tukey con una confiabilidad del 95 %, y la comprobación de los supuestos de los modelos respectivos se llevaron a cabo con el paquete estadístico SAS versión 9.4.

Respecto a la determinación de las tasas de crecimiento en altura de planta, por efecto de dosis de radiación gamma en función del tiempo, se realizó con la primera derivada del modelo de regresión logística; modelo que presentó un coeficiente de correlación superior a 0.95.

## **2.5. Resultados**

### **2.5.1. Germinación**

En el Cuadro 2 se presentan los valores promedio de germinación de semillas de H10-2416 y Huasteca 400 a los 9 DDS con los diferentes tratamientos de irradiación y su diferencia en porcentaje con respecto al control. El porcentaje de germinación registrado fue de 70.66 y 74.67 % para el control de H10-2416 y Huasteca 400, respectivamente. Se observó que H10-2416, no mostró diferencia significativa por efecto de dosis, con respecto al control, por lo que se considera más radio-tolerante a la radiación gamma que Huasteca 400. Por el contrario, la germinación de Huasteca 400 fue significativamente menor a partir de 350 Gy y su máxima reducción respecto al control fue a los 500 Gy.

La  $DL_{30}$  para germinación de semillas de soya H10-2416, no se encontró dentro del rango de dosis del presente estudio; además no se encontraron efectos significativos de la dosis en la germinación ( $Pr>F= 0.0955, 0.1152$  y  $0.2527$ , regresión lineal, cuadrática I y II, respectivamente).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación de semillas de soya H10-2416 y Huasteca 400 a los 9 DDS en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416			Huasteca 400		
	Germinación (%)	Diferencia con respecto al control (%)		Germinación (%)	Diferencia con respecto al control (%)	
Control	70.67 ± 6.11	0	a	74.67 ± 4.61	0	a
50	73.33 ± 6.11	+3.77	a	70.67 ± 8.32	-5.36	ab
100	74.67 ± 2.30	+5.66	a	61.33 ± 12.85	-17.86	a-d
150	70.67 ± 6.11	0	a	62.67 ± 4.61	-16.08	a-c
200	68.00 ± 6.92	-3.78	a	56.00 ± 8.00	-25.00	a-e
250	70.67 ± 6.11	0	a	58.67 ± 4.61	-21.43	a-e
300	62.67 ± 2.30	-11.32	a	60.00 ± 8.00	-19.65	a-e
350	62.67 ± 2.30	-11.32	a	49.33 ± 4.61	-33.93	c-e
400	64.00 ± 4.00	-9.44	a	52.00 ± 4.00	-30.36	b-e
450	62.00 ± 14.14	-12.27	a	52.00 ± 4.00	-30.36	b-e
500	73.33 ± 6.11	+3.77	a	41.33 ± 4.61	-44.65	e

Datos promedio de tres repeticiones ± desviación estándar; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

En el Cuadro 3 se presentan los modelos de regresión lineal simple y cuadrática I y II para la determinación de la DL<sub>30</sub> de germinación de la variedad de soya Huasteca 400 por efecto de la dosis de radiación gamma aplicada, así como los valores de los criterios de selección establecidos en el presente estudio. Los modelos estudiados presentaron un buen ajuste a los datos por lo que la selección se realizó usando el coeficiente de determinación y el AIC; el modelo de regresión lineal simple fue el seleccionado de acuerdo a los criterios mencionados. Mediante los parámetros del modelo seleccionado, la DL<sub>30</sub> para germinación de semillas de soya Huasteca 400

se estimó en 367.31 Gy. Asimismo, a través del modelo de regresión cuadrática II, segundo modelo de mayor ajuste, la  $DL_{30}$  se estimó en 388.97 Gy.

Cuadro 3. Modelos de regresión lineal para la determinación de la  $DL_{30}$  de germinación de soya Huasteca 400 en función de la dosis de radiación gamma  $Co^{60}$ .

Regresión	$R^2$	$R^2$ ajustado	Falta de ajuste	AIC	Ecuación	$DL_{30}$ (Gy)
Lineal	0.64	0.63	0.47	149.13	$PG=72.2891-0.05451dosis$	367.31
Cuadrático I	0.58	0.57	0.13	155.40	$PG=67.21997-0.00010040dosis^2$	385.92
Cuadrático II	0.64	0.62	0.40	151.02	$PG=72.80557-0.06203dosis+0.00001511dosis^2$	388.97

### 2.5.2. Sobrevivencia de plantas

En el Cuadro 4 se presenta el número promedio de plantas generación M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400 en la fase fenológica R1 de los tratamientos de irradiación, así como la diferencia con respecto al control. En general, en ambos materiales genéticos se observó una correlación positiva de la mortalidad de plantas con la dosis de radiación gamma. En H10-2416, no se encontró diferencia significativa en el número de plantas sobrevivientes en la fase R1 por efecto de dosis, respecto con el control. Por el contrario, en Huasteca 400, se observó diferencia significativa en dosis superiores a 400 Gy. En 500 Gy, Huasteca 400 presentó una mayor mortalidad de plantas que H10-2416.



Cuadro 4. Número promedio de plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400, en la fase fenológica R1, en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416				Huasteca 400			
	NPR1 ajustado	Diferencia con respecto al control (%)		NPi	NPR1 ajustado	Diferencia con respecto al control (%)		NPi
Control	14.90	0	a	18.50	14.02	0	a-e	16.5
50	15.01	+0.71	a	17.75	14.26	+1.68	a-c	17.75
100	15.29	+2.61	a	19.25	14.88	+6.11	a	15.75
150	13.55	-9.04	a	18.00	13.97	-0.34	a-f	16.25
200	13.85	-7.05	a	18.25	14.64	+4.43	ab	14.50
250	14.97	+0.48	a	16.25	14.14	+0.86	a-d	14.50
300	12.97	-12.94	a	16.25	13.24	-5.60	a-g	15.00
350	12.86	-13.67	a	17.00	11.50	-17.98	a-h	13.75
400	13.35	-10.40	a	18.25	10.86	-22.56	c-i	13.00
450	13.01	-12.66	a	12.50	8.59	-38.70	hi	14.25
500	12.29	-17.49	a	16.25	7.17	-48.87	i	12.00

NPR1 ajustado= Número promedio ajustado de plantas vivas en la fase de inicio de floración (R1); NPi=Número promedio de plantas de cuatro repeticiones al inicio del estudio; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

En el Cuadro 5 se presentan los modelos de regresión lineal múltiple para la determinación de la DL<sub>30</sub> de sobrevivencia de plantas de soya H10-2416 y Huasteca 400 en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup> y los valores de los criterios de selección. En H10-2416, los modelos de regresión presentaron coeficientes de determinación ajustado aceptables (R<sup>2</sup> ajustado=0.754-0.759) y un buen ajuste a los datos (valores de p=0.595, 0.59 y 0.58) de los tres modelos estudiados. El modelo de regresión lineal múltiple fue el seleccionado debido a que presentó el coeficiente de correlación ajustado más alto (R<sup>2</sup> ajustado=0.759) y el menor valor de AIC (42.79). La DL<sub>30</sub> para sobrevivencia de plantas de soya H10-2416 no se encontró dentro del rango

de estudio. Mediante este modelo, se estimó reducción de 22.07 % de la sobrevivencia en dosis de 500 Gy. Sin embargo, a través de regresión cuadrática I, segundo modelo de mayor ajuste, la  $DL_{30}$  se predijo en 557 Gy ( $P_i=16$  individuos).

En términos de sobrevivencia de plantas para el caso de la variedad Huasteca 400, los modelos presentaron valores superiores de coeficientes de determinación ajustado a los obtenidos en H10-2416 ( $R^2$  ajustado=0.810-0.893); el modelo de regresión lineal múltiple no presenta un buen ajuste a los datos. El mejor modelo fue el modelo de regresión cuadrática múltiple II ( $R^2$  ajustado=0.893 y  $AIC=31.90$ ). No obstante, el modelo de regresión cuadrática múltiple I, presentó una  $R^2$  ajustado=0.877 y  $AIC$  de 37.17, también presenta buenos indicadores de ajuste. La  $DL_{30}$  para la sobrevivencia de plantas de Huasteca 400, se estimó en 355.58 y 372.23 Gy, regresión cuadrática I y II, respectivamente ( $P_i=14$  individuos).

Cuadro 5. Modelos de regresión lineal múltiple para la determinación de la DL<sub>30</sub> de la sobrevivencia de plantas de soya H10-2416 y Huasteca 400 en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Material genético	Regresión	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Falta de ajuste	AIC	Ecuación	DL <sub>30</sub> (Gy)
H10-2416	Lineal	0.77	0.75	0.59	42.79	SP=3.88339- 0.00613dosis+0. 72614Pi	500*
	Cuadrático I	0.76	0.75	0.59	43.14	SP=3.58297- 0.00001234dosi s <sup>2</sup> +0.71588Pi	557
	Cuadrático II	0.77	0.75	0.58	44.65	SP=3.85449- 0.00405dosis- 0.00000446dosi s <sup>2</sup> +0.71964Pi	614
	Lineal	0.81	0.81	0.04	56.43	SP=3.16246- 0.01378dosis+0. 80153Pi	-
Huasteca 400	Cuadrático I	0.88	0.87	0.18	37.17	SP=2.95463- 0.00003014dosi s <sup>2</sup> +0.76117Pi	355.58
	Cuadrático II	0.90	0.89	0.26	31.90	SP=1.12512+0. 01326dosis- 0.00005406dosi s <sup>2</sup> +0.80213Pi	372.23

Pi=número de plantas de soya emergidas a los 9 DDS provenientes de semillas expuestas a diferentes dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>, \*Dosis que reduce 22.27 % la sobrevivencia de plantas H10-2416 a la etapa fenológica R1.

### 2.5.3. Altura de planta

En el Cuadro 6 se presentan los promedios de altura de planta de H10-2416 y Huasteca 400 en la fase R1 con diferentes tratamientos de irradiación, y su correspondiente diferencia en porcentaje con respecto al control. La altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 en los tratamientos control fue de 85.21 y 71.41 cm, respectivamente. En ambos materiales genéticos se observan diferencias significativas a partir de 300 Gy, respecto con el control. Asimismo, el valor más bajo de altura de planta, se presentó en dosis de 500 Gy (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedio de altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 en R1 en función de la dosis de radiación gamma  $Co^{60}$ .

Dosis (Gy)	H10-2416			Huasteca 400		
	Altura de planta <sup>1</sup> (cm)	Diferencia con respecto al control (%)		Altura de planta <sup>1</sup> (cm)	Diferencia con respecto al control (%)	
Control	85.21 ± 5.25	0.00	a	71.41 ± 4.52	0.00	ab
50	75.28 ± 6.46	-11.66	a-d	73.33 ± 4.91	+2.68	a
100	79.90 ± 5.32	-6.24	ab	69.72 ± 3.31	-2.37	a-c
150	78.53 ± 4.32	-7.84	a-c	63.72 ± 5.14	-10.77	a-e
200	74.93 ± 8.21	-12.06	a-e	64.32 ± 3.85	-9.94	a-d
250	74.84 ± 7.04	-12.17	a-f	60.92 ± 3.62	-14.69	b-f
300	66.08 ± 4.22	-22.45	c-h	57.56 ± 4.72	-19.40	c-g
350	68.26 ± 3.78	-19.90	b-g	47.01 ± 8.83	-34.17	g-i
400	64.73 ± 3.93	-24.04	d-i	50.08 ± 6.18	-29.88	f-h
450	57.90 ± 2.39	-32.05	g-j	40.76 ± 4.00	-42.93	h-j
500	45.72 ± 5.32	-46.35	j	32.76 ± 2.06	-54.12	j

<sup>1</sup>Valor promedio de cuatro bloques; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

En el Cuadro 7 se presentan los modelos de regresión lineal utilizados para la determinación de la GR<sub>30</sub> de altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 por efecto de la radiación gamma, así

como los valores de los criterios de selección establecidos en el presente estudio. En H10-2416, los modelos presentaron coeficientes de determinación simple y ajustada de 0.71 a 0.76; sin embargo, el modelo de regresión lineal simple no presenta un buen ajuste (valor de  $p=0.008$  en la prueba de falta de ajuste). El modelo cuadrático I fue el seleccionado de acuerdo a los criterios de selección ( $R^2=0.769$  y  $AIC=155.23$ ). No obstante, el modelo de regresión cuadrática II, presentó valores similares de coeficiente de determinación ajustado y AIC. La  $GR_{30}$  para altura de planta de soya H10-2416 se estimó en 414.20 y 442.92 Gy.

En relación con la  $GR_{30}$  de altura de planta de soya Huasteca 400, los modelos de regresión lineal presentaron coeficientes de determinación simple y ajustada de 0.83 a 0.86, y de igual forma que en el genotipo H10-2416, el modelo de regresión lineal no presenta un buen ajuste a los datos. Los modelos de regresión cuadrática I y II presentaron coeficientes de determinación de 0.86, sin embargo, por el valor de AIC, el mejor modelo fue el de regresión cuadrática I. Con base en los parámetros del modelo, la  $GR_{30}$  de altura de planta de soya Huasteca 400 se estimó en 368.82 Gy.

Cuadro 7. Modelos de regresión lineal para determinar la GR<sub>30</sub> de altura de planta de soya H10-2416 y Huasteca 400 en la fase R1, en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Material genético	Regresión	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Falta de ajuste	AIC	Ecuación	GR <sub>30</sub> (Gy)
H10-2416	Lineal	0.71	0.70	0.008	165.61	AP=85.66500-0.06216x	-
	Cuadrático I	0.77	0.76	0.14	155.23	AP=81.04157-0.00012476dosis <sup>2</sup>	414.20
	Cuadrático II	0.77	0.76	0.10	157.20	AP=80.77409+0.00305dosis-0.00013042dosis <sup>2</sup>	442.92
Huasteca 400	Lineal	0.83	0.82	0.04	152.99	AP=76.62500-0.07684dosis	-
	Cuadrático I	0.86	0.86	0.36	143.87	AP=70.60663-0.00015076dosis <sup>2</sup>	368.82
	Cuadrático II	0.86	0.86	0.37	144.50	AP=72.37456-0.02017dosis-0.00011334dosis <sup>2</sup>	357.6

Es importante señalar que durante el periodo de estudio las tasas de crecimiento de altura de planta del tratamiento de 300 y 500 Gy, fueron menores al control para ambos materiales en estudio. Al inicio del estudio (12 DDS), las plantas de las semillas sin irradiar de H10-2416 presentaron una tasa de crecimiento promedio de 0.96 cm día<sup>-1</sup>, mientras que en 300 y 500 Gy, la tasa de crecimiento fue de 0.65 y 0.39 cm día<sup>-1</sup>, respectivamente. Asimismo, se observó una tardía tasa máxima de crecimiento con el incremento de la dosis de radiación gamma. La máxima

tasa de crecimiento en el control, se observó a los 34 DDS ( $1.97 \text{ cm día}^{-1}$ ), mientras que en 300 y 500 Gy fueron a los 41 y 55 DDS ( $1.66$  y  $1.24 \text{ cm día}^{-1}$ ), respectivamente (Figura 1).

Por otra parte, durante el periodo de estudio las plantas M1 Huasteca 400 de las semillas expuestas a dosis de 300 Gy, presentaron tendencias similares de crecimiento respecto al control; caso contrario en dosis de 500 Gy. A los 12 DDS, el rango de altura de planta de Huasteca 400 fue de 15 cm (Control) hasta 4.22 cm (500 Gy). Asimismo, el control presentó tasa de crecimiento de  $1.06 \text{ cm día}^{-1}$ , mientras que en las dosis de 300 y 500 Gy, fue de  $0.76$  y  $0.3 \text{ cm día}^{-1}$ . La tasa máxima de crecimiento en el control se obtuvo a los 26 DDS ( $1.78 \text{ cm día}^{-1}$ ), mientras que en dosis de 300 y 500 Gy, a los 34 y 41 DDS ( $1.41$  y  $0.83 \text{ cm día}^{-1}$ ) (Figura 2).

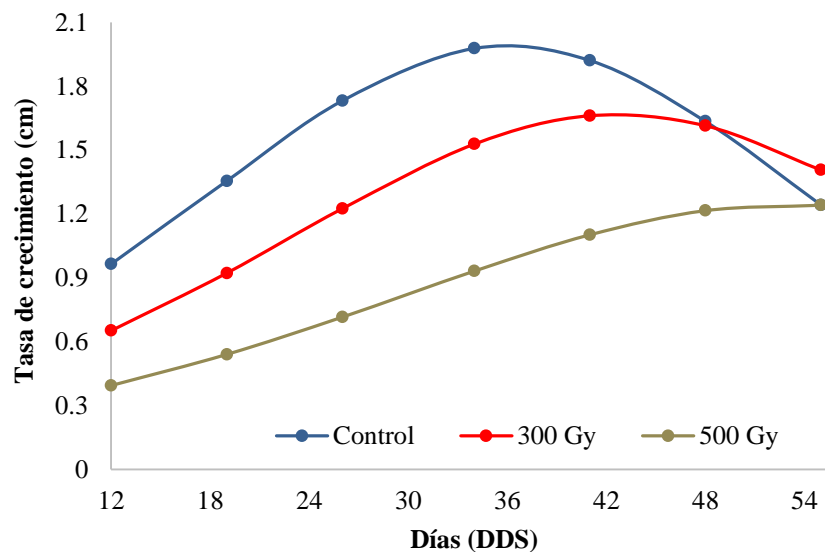


Figura 1. Tasas de crecimiento de altura de planta M1 de los tratamientos de irradiación y control de H10-2416, en función del tiempo.

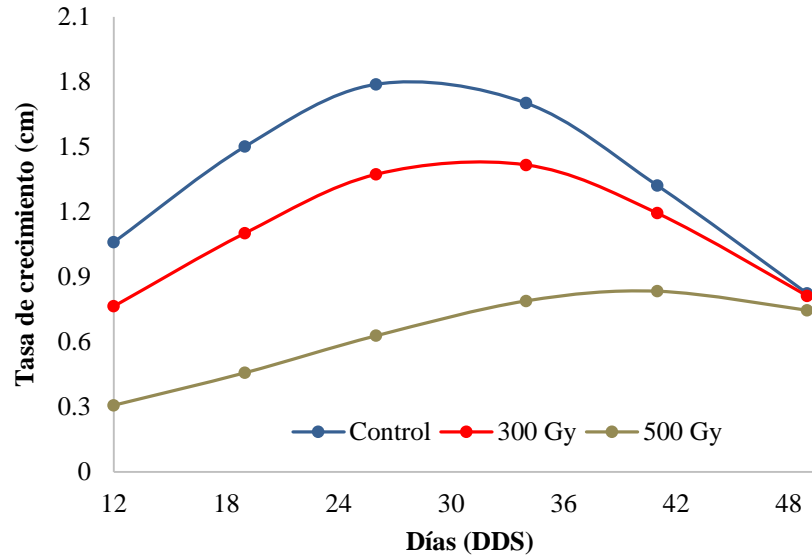


Figura 2. Tasas de crecimiento de altura de planta M1 de los tratamientos de irradiación y control de Huasteca 400 en función del tiempo.

#### 2.5.4. Número de semillas

En el Cuadro 8 se presentan los valores promedio de número de semillas por planta en soya H10-2416 y Huasteca 400 en los tratamientos de irradiación, y la reducción de estos con respecto al control. Las plantas del tratamiento control presentaron 478 y 363 semillas planta<sup>-1</sup> en H10-2416 y Huasteca 400, respectivamente. En ambos materiales no se observaron valores superiores del número de semillas por planta en las dosis de radiación gamma de este estudio, pero sí, una tendencia de su decremento promedio con el aumento de la dosis. Ambos materiales presentaron valores estadísticamente inferiores en dosis de 300 Gy y el número de semillas promedio más bajo en 500 Gy.



Cuadro 8. Promedio de número de semillas por planta en soya H10-2416 y Huasteca 400 en función de la radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416		Huasteca 400	
	Número de semillas planta <sup>-1</sup> *	Diferencia con respecto al control (%)	Número de semillas planta <sup>-1</sup> *	Diferencia con respecto al control (%)
Control	477.94 ± 29.63	0.00 a	362.64 ± 33.53	0.00 a
50	465.20 ± 110.00	-2.67 ab	255.25 ± 42.70	-29.61 a-c
100	366.50 ± 83.78	-23.32 a-e	304.00 ± 83.62	-16.17 ab
150	453.50 ± 81.42	-5.11 a-c	219.41 ± 50.57	-39.50 a-e
200	391.40 ± 91.68	-18.11 a-d	241.86 ± 39.72	-33.31 a-d
250	319.91 ± 38.81	-33.06 a-f	208.32 ± 95.70	-42.55 a-e
300	287.08 ± 135.49	-39.93 c-g	140.27 ± 63.45	-61.32 b-e
350	217.59 ± 53.43	-54.47 e-i	138.45 ± 38.39	-61.82 b-e
400	273.12 ± 34.26	-42.85 d-h	135.10 ± 89.63	-62.75 c-e
450	228.30 ± 90.28	-52.23 d-i	92.08 ± 37.58	-74.61 c-e
500	98.36 ± 41.31	-79.42 i	51.86 ± 13.68	-85.70 e

\*Valor promedio de cuatro bloques; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

En el Cuadro 9 se presentan los modelos de regresión utilizados para determinar la GR<sub>30</sub> para número de semillas. En H10-2416, el modelo de mejor ajuste fue el de regresión lineal (R<sup>2</sup>=0.62 y AIC=363.147). Con base en los parámetros de este modelo, la GR<sub>30</sub> para número de semillas por planta se estimó en 241.48 Gy. En Huasteca 400, la regresión lineal presentó el mayor ajuste a los datos observados, con sus parámetros se estimó la GR<sub>30</sub> en 141.99 Gy.

**Cuadro 9.** Modelos de regresión lineal para la determinación de la GR<sub>30</sub> de número de semillas por planta de soya H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Material genético	Regresión	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Falta de ajuste	AIC	Ecuación	GR <sub>30</sub> (Gy)
H10-2416	Lineal	0.62	0.610	0.429	363.14	NSP=491.28502-0.64905dosis	241.48
	Cuadrático I	0.61	0.602	0.370	363.97	NSP=439.06550-0.00126dosis <sup>2</sup>	288.00
	Cuadrático II	0.62	0.608	0.410	364.25	NSP =471.88060-0.38415dosis-0.00053665dosis <sup>2</sup>	268.1
Huasteca 400	Lineal	0.69	0.686	0.553	359.64	NSP=330.69216-0.54124dosis	141.99
	Cuadrático I	0.63	0.626	0.117	367.32	NSP=282.67694-0.00099765dosis <sup>2</sup>	170.06
	Cuadrático II	0.69	0.678	0.467	361.59	NSP=334.06318-0.58618dosis+0.00008989dosis <sup>2</sup>	175.7

Con relación a los efectos somáticos de la radiación gamma, en el Cuadro 10 se muestran los porcentajes de plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400, mismos que, presentaron grupos de flores anormales por efecto de las dosis de radiación gamma. En ambos materiales a partir de 200 Gy, se manifestaron dichos efectos no deseados en las plantas M1 (4.76 y 1.9 %, H10-2416 y Huasteca 400, respectivamente). En estas plantas se encontraron como máximo siete vainas de uno o dos granos, y en los casos más severos, se detectaron grupos de flores sin formación de vainas. De manera general, la frecuencia de estos paquetes de flores incrementó con el aumento de dosis de radiación. En las poblaciones M1 de ambos materiales, la mayor frecuencia se observó en dosis de 450 y 500 Gy, los cuales generalmente presentaron grupos de flores sin la formación de vainas (Figura 3).

Cuadro 10. Porcentaje de plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400 con grupos de flores anormales por efecto de la radiación gamma.

Dosis (Gy)	Genotipo H10-2416			Variedad Huasteca 400		
	Total de Plantas	PGFA (número)	PGFA (%)	Total de Plantas	PGFA (número)	PGFA (%)
Control	68	0	0	58	0	0
200	63	3	4.76	54	1	1.9
250	61	2	3.28	52	2	3.8
300	53	3	5.66	50	7	14
350	55	2	3.64	39	5	12.8
400	61	2	3.28	34	3	8.8
450	41	4	9.76	29	5	17.2
500	32	7	21.88	16	6	37.5
Total	354	23	6.50*	274	29	10.58*

PGFA=Plantas con grupos de flores anormales; \* Porcentaje de plantas con grupos de flores anormales respecto al total de plantas del material genético.

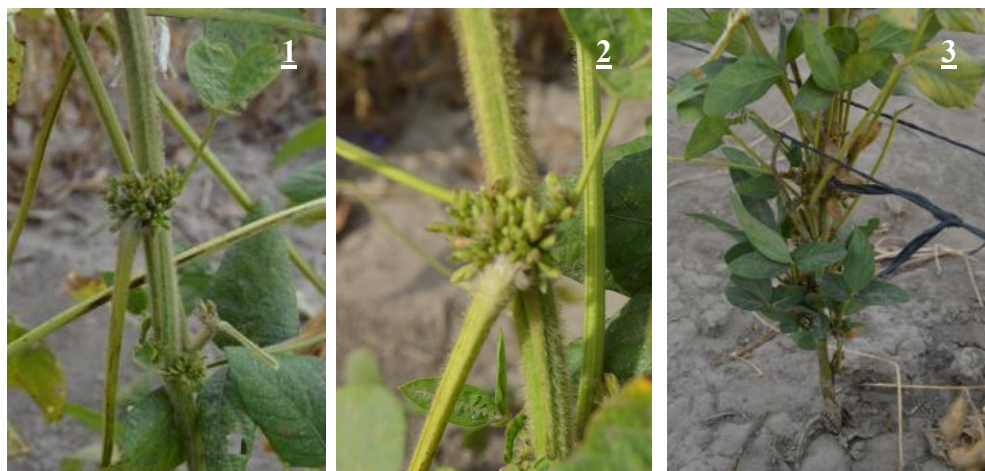


Figura 3. Grupos de flores anormales en plantas de soya H10-2416 y Huasteca 400 por efecto de la radiación gamma. 1). H10-2416, dosis de 250 Gy, 2) H10-2416, dosis de 450 Gy, y 3), Huasteca 400, dosis de 450 Gy.

## 2.6. Discusión

La mutagénesis inducida ha sido un método importante para generar variación genética que puede ser usada directa o indirectamente en los programas de mejoramiento de plantas [4], especialmente en cultivos con reducida base genética como la soya. Un estudio básico en la mutagénesis inducida es la determinación de la dosis óptima del mutágeno para generar mutaciones deseables en el genotipo de interés, la cual se ha relacionado con la  $DL_{30-50}$  y  $GR_{30-50}$  [12].

Los resultados revelaron, una disminución del valor de las variables de estudio de H10-2416 y Huasteca 400 con el aumento de la dosis de radiación gamma (excepto germinación en H10-2416). Asimismo, en términos generales, H10-2416 fue más tolerante a la radiación que Huasteca 400. En trabajos realizados sobre el efecto de la radiación gamma en soya, se reporta una correlación negativa de la germinación con la dosis, sin embargo, pocos indican tolerancia a partir de dosis de 500 Gy. La germinación de soya H10-2416 no presentó valores significativamente inferiores en dosis de 50 hasta 500 Gy, comparado con el control. Resultados similares obtuvieron Aminah *et al.* [19] en la variedad de soya Anjasmoro en el intervalo de dosis de 100 hasta 1000 Gy.

Respecto a la variable germinación, en la variedad Huasteca 400, a partir de 350 Gy se tuvo una tendencia de reducción significativa, mientras que en la dosis máxima de estudio (500 Gy), se presentó reducción de 44.65 % comparado con el control. Al respecto, Pavadai [20] reportan tendencias definidas de disminución de la germinación en la soya variedad Co-1 por el efecto de la radiación gamma en dosis de 100 a 1000 Gy. La respuesta diferencial de radiosensibilidad a los rayos gamma de los materiales del presente estudio puede ser debido al fondo genético. Olasupo

*et al.* [13], reportan el efecto de la radiación gamma en ocho materiales de *Vigna unguiculata*, donde el genotipo IB y sus derivados IB-Y-1, IB-BPC y IB-CR, fueron más tolerantes a la radiación gamma en relación a los otros materiales usados en el estudio. La reducción de la germinación de semillas M1 ha sido atribuida a disturbios fisiológicos, bioquímicos, y daños en los cromosomas por efecto de la radiación gamma [16, 21]. Ramesh y Verma [22], reportan un incremento de aberraciones cromosómicas con el aumento de la dosis de radiación gamma en células en metafase mitótica de *Phlox drummondii*, tales como dicéntricos, tricéntricos, traslocaciones, anillos, deficiencias y fragmentos acéntricos. Mientras que Marcu *et al.* [23], reportan que la concentración de radicales libres inducida por la radiación gamma depende de la dosis absorbida, los cuales contribuyeron al decremento de la germinación en maíz.

La sobrevivencia es uno de los parámetros postgerminación usados para estimar el daño causado por la radiación gamma en las plantas M1. Lo anterior se debe a que permite hacer las estimaciones pertinentes sobre el número de plantas M1 que darán origen a la generación M2, en un programa de mejoramiento genético asistido por mutagénesis inducida. Un incremento de la mortalidad de plantas en relación con el aumento de la dosis de radiación gamma se ha reportado en *Canscora decurrens* [24], *Citrus reticulata* cv. Limau Madu [25] y *Trichosanthes anguina* L. [26]. Los resultados obtenidos de sobrevivencia corroboran trabajos previos en este tópico. En H10-2416, se obtuvo diferencia no significativa en relación al control; en la dosis máxima (500 Gy), se observó 17.49 % de mortalidad de plantas. En Huasteca 400, se obtuvo 50 y 71.41 % de mortalidad de las plantas en dosis de 450 y 500 Gy. La mortalidad de las plantas por efecto de la radiación gamma pudo haberse debido al daño directo en los cromosomas o indirecto a través del estrés oxidativo debido a las especies de oxígeno reactivo, los cuales provocan un disturbio funcional o inhibición de macromoléculas vitales, como hormonas de crecimiento (auxinas),

proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El grado de la radio-susceptibilidad del material genético a los rayos gamma, se ha atribuido a factores como el genotipo, contenido de ADN, nivel de ploidía, contenido de humedad y fase del ciclo celular [15, 16, 17].

La altura de planta en H10-2416 y Huasteca 400 en la fase de iniciación de floración (R1) presentó una tendencia hacia valores inferiores con el aumento de la dosis de radiación gamma. En ambos materiales, diferencias significativas se obtuvieron a partir de dosis de 300 Gy y los valores más bajos en dosis de 500 Gy. Estos resultados confirman lo reportado en pimiento morrón [27], en los genotipos de arroz Ashfal y Binadhan-14 [28] y en *Vigna unguiculata* accesión IB-BPC [13]. Asimismo, a partir de dosis de 300 a 500 Gy, se observó una tasa de crecimiento menor al tratamiento control de cada material, así como, una tardía tasa máxima de crecimiento en altura de la planta, los cuales están relacionados con una menor tasa de división celular. Lagoda [16], indica que la destrucción de muchas enzimas por la radiación contribuye a una baja división celular y crecimiento de la planta.

Con el incremento de la dosis de radiación gamma, las plantas M1 de H10-2416 y Huasteca 400 presentaron valores inferiores de número de semillas por planta, con respecto al control. A partir de las dosis de 350 y 300 Gy, se observaron reducciones superiores al 50 % en H10-2416 y Huasteca 400, respectivamente. Por su parte, Mudibu *et al.* [29], en los materiales de soya Kitoko, Vuangi y TGX 814-49 en dosis de 400 Gy, reportan una producción de semillas inferior al 50 % comparado con el control. El decremento de la producción de semillas por planta por efecto de la radiación gamma, se ha atribuido al incremento de polen estéril, falta de estructuras reproductivas en la flor y el aborto del embrión antes de la madurez [12]. Khan y Tyagi [30], encontraron en las plantas M1 de soya variedad PK-1042 en dosis de 300 Gy, hubo un

incremento del 33.74 % de polen estéril respecto al control. Por su parte, Ramchander *et al.* [31] reporta un decremento del porcentaje de polen fértil en las variedades de arroz White Ponni y BPT 5204 con el incremento de las dosis de 100 a 500 Gy. La esterilidad del polen puede ser debido a anormalidades meióticas, como inversiones y traslocaciones. Sin embargo, la nula producción de semillas en las plantas M1 de soya H10-2416 y Huasteca 400, se debe a la formación de grupos de flores que no forman vainas, lo cual se observó a partir de 250 Gy. Estos grupos de flores improductivos, también han sido observados en soya variedad Anjasmoro en 200 y 300 Gy [19].

En las variables analizadas en el presente trabajo, el parámetro número de semillas por planta fue más radio-sensible a los rayos gamma, respecto a germinación, sobrevivencia y altura de planta. Asimismo, con base en la  $DL_{30}$  y  $GR_{30}$ , el rango de dosis de los parámetros estimados para evaluar la radiosensibilidad en Huasteca 400 fue entre 141.99 y 372.23 Gy, mientras que en H10-2416 fue más amplio entre 241.48 hasta 541 Gy.

La  $DL_{50}$  es el estimador más utilizado en la generación M1 como la dosis óptima que permite inducir variación genética con el mínimo de efectos no deseados. Sin embargo, para el caso de H10-2416, aun cuando sólo se predijo la  $DL_{30}$  (557 Gy), en dosis de 500 Gy se observó 22 % de efectos no deseados relacionados con la esterilidad, por lo que, la  $GR_{30}$ , fue el mejor estimador para la dosis óptima de radiación (3 % de plantas asociadas con esterilidad). En función de la  $GR_{30}$  en la altura de planta, las dosis de 368 y 414 Gy  $\pm$  5 % pueden ser útiles para inducir variación genética en la soya variedad Huasteca 400 y genotipo H10-2416, con el mínimo de efectos no deseados en la producción de semillas.

## 2.7. Conclusión

Existe una respuesta diferencial a los rayos gamma en función del genotipo de soya. H10-2416 fue más radio-tolerante a la radiación gamma que Huasteca 400.

Se encontró una correlación negativa entre las variables evaluadas de H10-2416 y Huasteca 400, con la dosis de radiación gamma, a excepción de la germinación en H10-2416.

La GR<sub>30</sub> para altura de planta y producción de semillas pueden ser mejores estimadores para dosis óptima de radiación gamma que la DL<sub>30-50</sub>.

En función de la GR<sub>30</sub>, dosis de 368 y 414 Gy  $\pm$  5 % pueden ser útiles para inducir variación genética en la soya variedad Huasteca 400 y genotipo H10-2416, con el mínimo de efectos no deseados.

## 2.8. Literatura citada

- [1] Salgado, J. M. and Donado-Pestana, C. M. (2011) Soy as a functional food. In: El-Shemy, H., Ed., Soybean and Nutrition. Intech, China, 21-44.  
<http://www.intechopen.com/books/soybean-and-nutrition/soy-as-a-functional-food>.
- [2] SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2016) Producción Agrícola. Avance de siembras y cosechas. Resumen Nacional por Cultivo.  
<http://www.gob.mx/siap/>.
- [3] Foster, B. P. and Shu, Q. Y. (2012) Plant mutagénesis in crop improvement: Basic terms



- and applications. In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa H., Eds., Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna, 9-20.
- [4] Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H. A., Miah, G. and Usman, M. (2016) Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30, 1-16.
- [5] Kharkwal, M. C. and Shu, Q. Y. (2009) The role of induced mutations in world food security. In: Shu, Q. Y., Ed., *Induced plant mutations in the genomics era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 33-38.
- [6] FAO/IAEA, Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency (2016) Mutant Variety Database. <http://mvgs.iaea.org>.
- [7] Kang, S. Y., Kim, D. S. and Lee, G. J. (2007) Genetic improvement of crop plants by mutation techniques in Korea. *Plant Mutation Reports*, 1, 7-15.
- [8] Kim, D. S., Lee, K. J., Kim, J. B., Kim, S. H., Song, J. Y., Seo, Y. W., Lee, B. M. and Kang, S. Y. (2010) Identification of Kunitz trypsin inhibitor mutations using SNAP markers in soybean mutant lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 121, 754-760.
- [9] Sebastian, S. A., Fader, G. M., Ulrich, J. F., Forney, D. R., Chalef, R. S. (1989) Semi-dominant soybean mutation for resistance to sulfonylurea herbicides. *Crop Sci.*, 29, 1403-1408.
- [10] Castillo-Torres, N., Montoya-Coronado, L., García-Bernal, A., Navarro-Sandoval, F. J. y Rodríguez Cota, F. G. (1998) Héctor y Esperanza: variedades de soya para el Noroeste de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Centro de Investigación Regional Pacífico Sur, Chiapas, México.

- [11] Kangarasu, S., Ganeshram, S. and Joel, A. J. (2014) Determination of lethal dose for gamma rays and Ethyl Methane Sulphonate induced mutagenesis in cassava (*Manihot Esculenta* Crantz.). International Journal of Scientific Research, 3, 3-6.
- [12] Kodym, A., Afza, R., Forster, B. P., Ukai, Y., Nakagawa, H. and Mba, C. (2012) Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa, H., Eds., Plant Mutation Breeding and Biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna, 169-180.
- [13] Olasupo, F. O., Ilori, C. O., Forster, B. P. and Bado, S. (2016) Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). American Journal of Plant Sciences, 7, 339-351.
- [14] Horn, L. and Shimelis, H. (2013) Radio-sensitivity of selected cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes to varying gamma irradiation doses. Scientific Research and Essays, 8, 1991-1997.
- [15] Kahrizi, Z. A., Kermani, M. J. and Amiri, M. (2012) Effect of gamma rays on nuclear DNA content in different rose genotypes. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3, 1155-1160.
- [16] Lagoda, P. J. L. (2012) Effects of radiation on living cells and plants. In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa, H., Eds., Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna, 123-134.
- [17] Raghuvanshi, S. S. and Singh, D. N. (1977) Comparative radiosensitivity of diploid and autotetraploid *Trigonella foenum-graecum* L. to gamma rays. Caryologia, 30, 411-421.

- [18] Maldonado-Moreno, N., Ascencio-Luciano, G. and Gill-Langarica, H. R. (2010) Huasteca 400, a new soybean cultivar for the south of Tamaulipas, east of San Luis Potosi and North of Veracruz state. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 687-692.
- [19] Aminah, Nur, A., Abdullah, Tahir, N., Edy and Nuraeni (2015) Improving the genetic diversity of soybean seeds and tolerance to drought irradiated with gamma rays. *Int. J. Curr. Res. Aca. Rev.*, 3, 105-113.
- [20] Pavadai, P. (2015) Studies on quantitative characters for gamma rays treatment in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) var. Co-1. *International Journal of Modern Cellular and Molecular Biology*, 4, 1-10.
- [21] Murugan, S., Bharathi, T., Ariraman, M. and Dhanavel, D. (2015) Effect of gamma rays on mitotic chromosome behaviour of root tip cells in *Catharanthus roseus* (L) G. Don. *Indo-Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 1, 222– 227.
- [22] Ramesh, A. and Verma, R. C. (2015) Effect of gamma radiation on chromosome at mitotic division in *Phlox Drummondii*. *International Research Journal of Biological Sciences*, 4, 82-85.
- [23] Marcu, D., Damian, G., Cosma, C. and Cristea, V. (2013) Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*). *J. Biol. Phys.*, 39, 625-634.
- [24] Yadav. V. (2016) Effect of gamma radiation on various growth parameters and biomass of *Canscora decurrens* Dalz. *International Journal of Herbal Medicine*, 4, 109-115.
- [25] Agisimanto, D., Noor, N. M., Ibrahim, R. and Mohamad, M. (2016) Gamma irradiation effect on embryogenic callus growth of *Citrus reticulata* cv. Limau Madu. *Sains*

- Malaysiana, 45, 329-337.
- [26] Sidhya, P. and Pandit, M. K. (2015) Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays in snake gourd (*Trichosanthes anguina* L.). Journal of Applied and Natural Science, 7, 649-651.
- [27] Sood, S., Jambulkar, S. J., Sood, A., Gupta, N., Kumar, R. and Singh, Y. (2016) Median lethal dose estimation of gamma rays and Ethyl Methane Sulphonate in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). SABRAO Journal of Breeding and Genetics, 48, 528-535.
- [28] Rani, M. H., Kamruzzaman, M., Ghanim, A. M. A., Azad, M. A. K. and Akter, M. B. (2016) Comparative effect of gamma and X-ray irradiations on some characters of rice seedlings of Ashfal and Binadhan-14. Journal of Bioscience and Agriculture Research, 8, 739-745.
- [29] Mudibu, J., Nkongolo, K. K. C., Kalonji-Mbuyi, A. and Kizungu, R. V. (2012) Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). American Journal of Plant Sciences, 3, 331-337.
- [30] Khan, M. H. and Tyagi, S. D. (2010) Induced morphological mutants in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. Front. Agric. China, 4, 175-180.
- [31] Ramchander, S. Ushakumari, R. and Arumugam-Pillai, M. (2015) Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. Indian J. Agric. Res., 49, 24-31.

## **CAPÍTULO III. MUTACIONES INDUCIDAS POR Co<sup>60</sup> PARA RENDIMIENTO DE SOYA GENOTIPO H10-2416 Y VARIEDAD HUASTECA 400**

### **3.1 Resumen**

El objetivo del presente estudio fue inducir mutaciones en caracteres de rendimiento en el genotipo H10-2416 y variedad Huasteca de soya 400 mediante radiación gamma Co<sup>60</sup>, y seleccionar mutantes con potencial de rendimiento para la región productora del Soconusco, Chiapas. Se utilizó un diseño experimental bloques al azar con tres repeticiones. Se evaluó días a floración, altura de planta, número de vainas y semillas por planta en la generación M2 de diez dosis de radiación (50-500 Gy; intervalos de 50 Gy), y se identificaron mutantes potenciales para rendimiento. Se hizo un análisis de varianza y comparación de medias mediante Duncan. En H10-2416 se observó floración un día después del control, en 200 y 450 Gy, mientras para altura de planta, el efecto de las diferentes dosis fue similar al control. A 200 Gy se registró un incremento del 27.73 % en el número de vainas con relación al control. No se encontró diferencia estadística para número de semillas por planta. En Huasteca 400, los días a floración registrados fueron similares en los tratamientos de irradiación y el control (34 días). En altura de planta se registraron incrementos de 12.76 y 39.52 % en 200 y 450 Gy, respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticas para número de vainas y semillas por planta. Las plantas mutantes de soya 123-1 y 123-4 presentaron 58.8 y 70 % más de rendimiento de grano respecto a sus parentales. Asimismo, dosis de 150 y 200 Gy, inducen incrementos del rendimiento en Huasteca 400 y H10-2416, respectivamente.

Palabras clave: *Glycine max*, mutagénesis, radiación gamma, rendimiento.

### 3.2. Abstract

Objective of this study was to induce mutations for yield traits in soybean genotypes H10-2416 and Huasteca variety, using  $^{60}\text{Co}$  gamma rays, to select potential mutants with increased yield for Soconusco, Chiapas region. A completely randomized blocks design with three replications was used. Evaluated variables were days to flowering, plant height, number of pods and seeds per plant on M2 generation coming from ten radiation doses (50-500 Gy; intervals of 50 Gy), and putative yield mutants were identified. Data were analyzed through analysis of variance and Duncan means comparison test. For H10-2416 flowering was delayed 1 day at 200 and 450 Gy, while for plant height effect of doses had no differences to control. At 200 Gy, an increase of 27.73% on number of pods was recorded in comparison to control. No significant difference was registered for number of seeds per plant. For Huasteca 400, days to flowering were the same as control (34 days). Concerning plant height, increases of 12.76 and 39.52% were found for 200 and 450 Gy respectively. It was found no significant difference for pod and seed number among treatments. Putative mutants 123-1 and 123-4 exhibited increase in yield of 58.8 and 70 % in comparison to parents. Doses of 150 and 200 Gy can induce improvement in yield for Huasteca 400 and H10-2416, respectively.

Keywords: *Glycine max*, mutagenesis, gamma radiation, yield.

### **3.3. Introducción**

En México, la soya es un cultivo importante principalmente por el alto contenido de proteína en su grano, ya que en presentación de pasta se utiliza como componente de la dieta balanceada en el sector pecuario. El rendimiento promedio de grano de soya en México es de 1.83 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2016) y la producción anual es de 509,113.62 toneladas de grano que representa aproximadamente 3 % de la cantidad requerida por nuestro país, lo que lleva la importación de 1,753,763 toneladas métricas de grano de Estados Unidos, con valor de 667,748 miles de dólares (SAGARPA, 2016). Una forma de reducir esta dependencia es mediante el incremento del rendimiento de grano por unidad de superficie, con el uso de nuevas variedades de soya con incrementos superiores a los rendimientos actuales.

El mejoramiento de la soya está enfocado principalmente a incrementar el rendimiento, por lo que es imprescindible contar con una amplia variación genética. La generación de nuevos genotipos de soya con características sobresalientes de rendimiento, es posible mediante la segregación y selección del cruzamiento de parentales con genes complementarios asociados con rendimiento. Sin embargo, la mayoría de los materiales genéticos de soya tienen mucha similitud, debido a la reducida base genética de esta especie (Hyten et al., 2006), lo que limita el mejoramiento genético por métodos convencionales.

La solución a este problema está en la mutagénesis inducida mediante la radiación gamma la que ha contribuido significativamente en la generación de diversidad genética en diversos cultivos (Boceng et al., 2016; Pooja y Srivastava, 2015; Sulieman et al., 2015; El-Degwy, 2013; Auti, 2012). En ese sentido, nuevas variedades de plantas han sido desarrolladas con impactos positivos en la seguridad alimentaria, a través del uso de variedades mutantes o mediante el uso

de parentales mutantes donadores de un rasgo específico (Kharkwal y Shu, 2009). Esta diversidad genética puede observarse en primera instancia en la generación M2, ya que más del 90 % de las mutaciones son recesivas (Foster y Shu, 2012).

Maluszynski et al. (2009), reportan que dosis desde 100 hasta 200 Gy de rayos gamma o rayos X son exitosas para generar variación genética en soya. Manjaya (2009), reportó que dosis de 250 Gy, produjo variación genética para contenido de aceite en plantas M2 de soya variedad VLS-2 (19.9 % de aceite en su grano), en un rango de 13.9 % hasta 24.61 %. Mientras, Tambe y Apparao (2009) observaron en la generación M2 con dosis de 300 Gy, mutaciones para caracteres que contribuyen al rendimiento de soya variedad MACS-450; también, identificaron un mutante con un rendimiento superior al parental en 247 %. Por su parte Pavadai et al. (2010) indican que la dosis de 500 Gy de radiación gamma fue efectiva para producir alta variación en la población de soya Co-1.

Con base en lo anterior, resulta evidente que existe una respuesta diferencial de los genotipos de soya a las dosis de radiación gamma para el rendimiento de semilla y sus diferentes componentes de rendimiento. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo el objetivo de inducir mutaciones y seleccionar mutantes potenciales para rendimiento mediante el uso de la radiación gamma  $Co^{60}$  en el genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, materiales genéticos que han presentado adaptabilidad a las condiciones edafoclimáticas prevalecientes en la zona productora de soya de la región del Soconusco, Chiapas.



### **3.4. Materiales y métodos**

#### **3.4.1. Material genético e irradiación**

Se utilizaron semillas de soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400, las cuales fueron sometidas a dosis de radiación gamma de 50 a 500 Gy con incrementos de 50 Gy. El irradiador que se utilizó fue el Transelektro LGI-01, con una razón de dosis de  $16.59 \text{ Gy s}^{-1}$ , del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), localizado en La Marquesa, Ocoyacac, Estado de México, México. Semillas no irradiadas fueron utilizadas como control. En cada tratamiento se utilizaron 48 semillas de cada genotipo cosechadas en el ciclo agrícola inmediato anterior (ciclo O-I 2015), con un contenido de humedad de 11 %.

#### **3.4.2. Población M1**

Una vez irradiadas las semillas con las diferentes dosis, se sembraron bajo condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, ubicado en Montecillo, Texcoco, Estado de México ( $19^{\circ} 27' \text{ LN}$  y  $98^{\circ} 54' \text{ LO}$ , y altitud de 2248 m). La siembra se realizó en bolsas de polietileno negro de 20 cm de diámetro por 40 cm de profundidad. El sustrato consistió de 10 kg de suelo en cada maceta (textura franco arenoso). Se depositaron cuatro semillas por maceta a una profundidad de 1 cm. Las prácticas agronómicas recomendadas fueron empleadas para mantener el cultivo de soya en condiciones idóneas. Las plantas sobrevivientes fueron cosechadas de forma individual.

#### **3.4.3. Población M2**

Con semillas obtenidas de la población M1, se estableció el experimento correspondiente a la población M2 (Cuadro 1). El experimento se llevó a cabo en condiciones de campo en el municipio de Mazatán, Chiapas, México ( $14^{\circ} 54' \text{ LN}$  y  $92^{\circ} 25' \text{ LO}$ , y altitud de 25.3 m), en el

ciclo agrícola otoño-invierno 2016. El suelo es franco limoso, pH de 6.45 y contenido de materia orgánica de 3.45 %. Durante el periodo de estudio, la temperatura promedio fue de 27 °C y humedad relativa de 92 %. Las poblaciones de soya H10-2416 y Huasteca 400 se sembraron en parcelas separadas bajo el método de progenie de planta individual M1. La siembra se realizó de forma manual en surcos a distancias de 0.6 m entre líneas y 0.08 m entre plantas, lo cual produjo una densidad de población de 208,333 plantas ha<sup>-1</sup>. El experimento se estableció en condiciones de humedad residual, la semilla germinó y en su inicio las plantas crecieron bajo condiciones de humedad. En diciembre 2016, la humedad residual del suelo fue de 10 cm (humedad residual estimada como lámina de agua), la cual sirvió para la germinación y etapa inicial de crecimiento del cultivo. Durante enero y febrero de 2017, se aplicaron láminas de riego de 2.00 cm con intervalos de 4 días. Después de febrero y hasta el final del ciclo experimental (primera quincena de abril), las láminas de riego fueron de 2.7 cm a intervalos de 8 días. Con base en lo anterior, durante el periodo del cultivo se estimó una lámina total acumulada de 45.4 cm (residual estimado + riegos de auxilio).

Cuadro 1. Número de plantas de soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400 utilizadas para la generación de la población M2.

Genotipo H10-2416				Variedad Huasteca 400			
Dosis	Plantas	Dosis	Plantas	Dosis	Plantas	Dosis	Plantas
50	8	300	16	50	12	300	13
100	10	350	5	100	16	350	10
150	5	400	6	150	13	400	10
200	8	450	2	200	12	450	4
250	7	500	2	250	10	500	4

#### 3.4.4. Diseño experimental y variables de respuesta

El diseño experimental utilizado en la población M2 fue bloques completamente al azar con tres repeticiones. La parcela experimental se conformó por el total de plantas existentes en una superficie de 0.6 m<sup>2</sup> de suelo. Se evaluó días a floración, altura de planta, número vainas y semillas por planta. El registro de datos correspondientes a la variable días a floración se realizó en toda la población para cada material genético. Se registró el número de días a floración, cuando las plantas presentaron una flor abierta en cualquier nudo del tallo principal. La altura de planta se cuantificó a partir de la base del tallo principal hasta el ápice terminal en tres plantas seleccionadas al azar en 0.8 m lineales del centro del surco; lo anterior se efectuó en la fase de madurez para cosecha. El número de vainas y semillas por planta se determinó en la fase de madurez para cosecha, en tres plantas seleccionadas por su apariencia de mayor número de vainas en competencia completa en 0.8 m lineales del centro del surco.

Con base en observaciones visuales en campo, se identificaron plantas mutantes de soya con potencial de alto rendimiento a las cuales se les cuantifico el número de vainas, semillas, peso de 100 semillas y rendimiento de grano; estos dos últimos con 14 % de humedad.

### **3.4.5. Análisis de datos**

Los datos de inicio de floración se sometieron a un análisis de varianza anidado (línea anidada en dosis). La altura de planta, número de vainas y semillas por planta se analizaron mediante un análisis de varianza con submuestreo. La comparación de medias se realizó con la prueba de Duncan con una confiabilidad del 95 % y la comprobación de los supuestos de normalidad de datos del modelo mediante la prueba de Shapiro Wilk para normalidad del error, gráfico de predicho contra residuales para homogeneidad de varianzas; independencia del error, se garantizó mediante la aleatorización de los tratamientos a las unidades experimentales. Los datos de número de vainas y semillas por planta fueron transformados mediante logaritmo natural para cumplir con el supuesto de normalidad del error. Los análisis respectivos se realizaron en SAS 9.0.

## **3.5. Resultados**

### **3.5.1. Días a floración**

Se encontró diferencia altamente significativa para la variable días a floración en la población M2 del genotipo de soya H10-2416, por efecto de dosis y líneas dentro de dosis ( $Pr>F=<.0001$ ). El inicio de la floración se registró a partir de 39 hasta 40 días (Control y 200 Gy, respectivamente). Comparado con el control, floración tardía estadísticamente se obtuvo a dosis de 200, 300 y 450 Gy (Cuadro 2).

En relación a líneas dentro de dosis, se observó floración temprana en las líneas 6 y 5 con las dosis de 50 y 250 Gy respectivamente. Para el caso de la línea 6, el 91 % de las plantas presentaron inicio de la floración a los 33 días mientras que el resto a los 37 y 40 días. Respecto a la línea 5, el 63 % de las plantas inició su floración a los 33 días; las demás a los 37 hasta 41 días. Por el contrario, el mayor número de días a floración se registró en la línea 9 que corresponde a la dosis de 300 Gy, donde el 55.56 % de las plantas inició su floración a los 43 días, mientras que el 22.22 % se registró a los 45 y 46 días; el resto de las plantas inició su floración a los 41 y 42 días.

El análisis de varianza sobre días a floración de la soya M2 Huasteca 400, reveló que las dosis de radiación gamma y las líneas dentro de dosis fueron estadísticamente similares al control ( $Pr>F=0.2697$  y  $0.6462$ , respectivamente). El inicio de floración promedio de Huasteca 400 en las dosis aplicadas y el control se registró a los 34 días (Cuadro 2). En relación a las líneas dentro de dosis, el máximo valor de floración se obtuvo en la línea 3 de la dosis de 450 Gy, donde el 70 % de las plantas presentaron floración a los 33 y 34 días, mientras que el resto la floración se observó desde los 35 hasta los 41 días.

Cuadro 2. Promedio, mínima y máxima de días a floración de líneas M2 del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis	H10-2416				Huasteca 400			
	Días a floración*	Grupo	Mín.	Máx.	Días a floración*	Grupo	Mín.	Máx.
Control	39.24	c	39.05	39.48	34.48	a	34.22	34.62
50	39.57	bc	33.34	41.49	34.26	a	33.91	34.78
100	39.97	a-c	37.19	41.74	34.04	a	33.46	35.08
150	39.54	bc	37.69	40.68	34.21	a	33.73	35.01
200	40.81	a	39.26	42.20	34.08	a	33.63	34.59
250	39.98	a-c	35.08	41.37	34.26	a	33.70	34.88
300	40.33	ab	38.00	43.02	34.23	a	33.70	34.93
350	40.10	a-c	38.61	40.95	34.00	a	33.58	34.52
400	39.62	bc	37.70	41.09	34.19	a	33.79	34.52
450	40.42	ab	39.71	41.12	34.40	a	34.04	35.17
500	39.74	bc	38.91	40.57	34.48	a	34.66	34.36

\*Valor promedio, días; Mín.=valor promedio mínimo de línea, días; Máx.=valor promedio máximo de línea, días;

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

### 3.5.2. Altura de planta

En el Cuadro 3, se presentan los valores promedio de altura de planta bajo diferentes tratamientos de radiación gamma Co<sup>60</sup>, así como el valor mínimo y máximo por línea M2 dentro de las dosis aplicadas al genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400. En términos generales, la altura de planta promedio en las diferentes dosis fue menor al control de H10-2416, con

excepción de 200 Gy. En las plantas control del genotipo H10-2416 se registró una altura de 54.11 cm, mientras que, para las diferentes dosis de radiación la altura osciló en el rango de 48.51 y 54.62 cm (200 Gy). Esta comparación con el control, no detectó diferencia significativa por efecto de dosis ( $P > F = 0.0515$ ), sin embargo, líneas dentro de dosis fueron altamente significativas ( $P > F = 0.0015$ ). En dosis de 50 y 250 Gy se identificaron las líneas 6 y 5 con la menor altura de planta (31.19 y 31.33 cm, respectivamente), mientras que a dosis de 200 Gy, la línea 2 presentó la mayor altura de planta (62.62 cm).

En términos de altura de planta en la variedad Huasteca 400, sólo el factor dosis fue altamente significativa ( $P > F = <.0001$ ); líneas dentro de dosis presentaron un valor de  $p = 0.5768$ . En el tratamiento control de la variedad Huasteca 400, se obtuvo una altura promedio de planta de 28.44 cm. Comparado con el control, con excepción de la altura de plantas con dosis de 150 Gy, las alturas observados en las otras dosis fueron estadísticamente superiores. Los mayores valores de altura de planta se observaron con las dosis de 200 y 450 Gy (37.9 y 39.68 cm).

En relación con las líneas, los mayores valores de altura de planta se encontraron en las líneas 8 y 12 con las dosis de 100 y 300 Gy (46.54 y 46.94 cm).

Cuadro 3. Promedio, mínima y máxima de altura de planta de líneas de soya M2 de H10-2416 y Huasteca 400, en función de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416				Huasteca 400			
	Altura de planta*	Grupo	Mín.	Máx.	Altura de planta*	Grupo	Mín.	Máx.
Control	54.11	a	50.97	56.37	28.44	e	26.22	29.72
50	48.93	a	31.19	55.69	34.17	cd	28.68	41.11
100	53.81	a	44.43	58.24	32.07	a-c	32.94	46.54
150	53.6	a	46.47	61.48	32.06	de	26.14	37.31
200	54.62	a	50.92	62.62	37.90	a	34.86	44.18
250	50.26	a	31.33	56.28	38.11	b-d	30.99	42.27
300	51.61	a	43.75	58.32	38.33	a-c	33.62	46.94
350	49.09	a	45.53	53.47	35.18	a-c	32.07	44.48
400	50.99	a	43.50	59.88	36.14	a-c	31.52	44.67
450	47.68	a	46.02	49.34	39.68	a	38.13	40.61
500	51.04	a	49.16	52.93	38.88	ab	35.19	43.12

\*Valor promedio, cm; Mín.=valor promedio mínimo de línea, cm; Máx.=valor promedio máximo de línea, cm;

Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

### 3.5.3. Número de vainas por planta

En plantas generación M2, en el genotipo H10-2416, se observó que los factores dosis y líneas dentro de dosis fueron significativos en el número de vainas ( $Pr > F = 0.0358$  y  $0.0308$ , respectivamente). En el tratamiento control se registró un promedio de 70 vainas por planta. En dosis de 200 y 300 Gy, se obtuvieron incrementos significativos del número de vainas en 28.57 y



27.14 %, respectivamente (90 y 89 vainas por planta), con respecto al control. En relación con las líneas dentro de dosis, las líneas 5, 3 y 16 con dosis de 50, 200 y 300 Gy presentaron 108, 107 y 125 vainas, que superan en 30, 28 y 50 % a la línea de mayor número de vainas dentro del tratamiento control. Sin embargo, en la dosis de 300 Gy, línea 5 presentó el menor valor de número de vainas (Cuadro 4).

Respecto al número de vainas por planta en la generación M2 variedad Huasteca 400, la dosis y líneas dentro de dosis fueron altamente significativas ( $P < F = < .0001$ ). En el control se contabilizó en promedio 41 vainas por planta. En comparación con el control, resultados similares se encontraron con dosis de 50, 200, 250, 300, 450 y 500 Gy, mientras que en las demás dosis del presente estudio fueron estadísticamente inferiores. En relación con las líneas, el valor promedio mínimo en cada dosis fue inferior al valor mínimo presentado en el tratamiento control. Los valores promedio más bajos se obtuvieron en dosis de 100 y 250 Gy con 21 vainas por planta (líneas 14 y 7), mientras que el valor máximo se obtuvo en la línea 7 en dosis de 300 Gy con 57 vainas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio, mínima y máxima de número de vainas por planta M2 en la soya genotipo H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416				Huasteca 400			
	Número de vainas*	Grupo	Mín.	Máx.	Número de vainas*	Grupo	Mín.	Máx.
Control	70.71	c	60.49	83.33	41.92	Ab	37.33	46.55
50	84.80	a-c	59.33	108.94	38.74	Bc	23.11	55.66
100	82.90	a-c	63.99	91.89	34.69	C	21.89	42.44
150	80.84	a-c	66.44	91.44	34.36	C	22.78	43.33
200	90.32	a	79.88	107.55	37.50	bc	24.11	48.66
250	75.20	a-c	51.67	98.63	41.61	ab	21.77	54.89
300	89.77	ab	48.66	125.49	35.33	C	23.89	57.67
350	81.11	a-c	70.66	93.33	41.44	ab	33.89	52.11
400	72.87	a-c	55.50	84.50	34.58	c	24.67	53.77
450	79.96	a-c	79.50	80.44	43.66	a	37.00	47.22
500	70.96	bc	55.83	86.11	38.51	ab	35.33	43.33

\*Valor promedio; Mín.=valor promedio mínimo de línea; Máx.=valor promedio máximo de línea; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

### 3.5.4. Número de semillas por planta

En las plantas M2 de soya H10-2416, no se observó efecto significativo en la producción promedio de semillas por el factor dosis ( $Pr>F=0.1465$ ), mientras en el factor línea dentro de dosis fue altamente significativa ( $Pr>F=0.0141$ ). Así, el número de semillas promedio por dosis fue mayor al control desde 50 Gy hasta 300 Gy, mientras que a partir de esta última dosis, los

valores fueron menores. En términos de líneas dentro de dosis, las líneas 8, 7 y 15 de las dosis de 50, 100 y 300 Gy, presentaron los mayores promedios de número de semillas por planta. Asimismo, se observó en la mayoría de la dosis, excepto 350 Gy, un menor número de semillas respecto a la línea de menor producción del control (Cuadro 5).

Respecto a la soya variedad Huasteca 400, los factores dosis y línea dentro de dosis fueron altamente significativos sobre la producción de semillas ( $Pr > F = < .0001$ ). Las plantas control de Huasteca 400, presentaron en promedio 97 semillas. Resultados estadísticamente similares se obtuvieron en dosis de 50, 250, 350 y 450 Gy con 92, 92, 96 y 96 semillas, respectivamente; en las demás dosis los valores promedio de número de semillas fueron estadísticamente inferiores. La menor producción de semillas en promedio se encontró en dosis de 300, 400 y 500 Gy (Cuadro 5).

Respecto a las líneas dentro de dosis, se observaron líneas con menor producción de semillas por debajo del número de semillas producidas en el tratamiento control; en la línea 5 de la dosis de 50 Gy, se obtuvo hasta 46.95 % menos número de semillas. Mientras que las líneas de mayor rendimiento se encontraron en dosis 250, 350, 200 y 450 Gy, con incrementos de 26.71, 24.32, 19.48 y 19.26 % más que la línea de mayor rendimiento del control.

Cuadro 5. Promedio, mínima y máxima de número de semillas por planta M2 en la soya genotipo H10-2416 y Huasteca 400, por efecto de la dosis de radiación gamma Co<sup>60</sup>.

Dosis (Gy)	H10-2416				Huasteca 400			
	Número de semillas/ planta*	Grupo	Mín.	Máx.	Número de semillas/ planta*	Grupo	Mín.	Máx.
Control	160.64	a	140.49	190.67	97.62	a	89.44	103.22
50	176.84	a	124.33	238.44	92.96	a-c	47.44	121.84
100	181.84	a	138.50	213.33	81.10	d	50.89	117.73
150	172.06	a	139.55	197.66	81.44	cd	58.99	108.74
200	171.76	a	126.33	193.00	89.15	bc	61.33	123.33
250	164.11	a	103.83	199.22	92.45	ab	53.11	130.80
300	170.83	a	95.66	224.17	79.51	d	57.33	109.78
350	154.70	a	150.44	162.83	96.07	ab	73.77	128.33
400	134.25	a	109.67	164.67	78.26	d	61.77	113.55
450	149.97	a	124.11	175.83	96.94	ab	67.22	123.11
500	159.03	a	127.17	190.89	77.03	d	75.55	79.44

\*Valor promedio; Mín.=valor promedio mínimo de línea; máx.=valor promedio máximo de línea; Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes con una confiabilidad del 95 %.

### 3.5.5 Selección de plantas mutantes de soya con alto potencial de rendimiento

Se seleccionaron 11 plantas M2 de soya H10-2416 con alto potencial de rendimiento, generadas con las dosis que se encuentran en el rango de 50 hasta 300 Gy. Estas plantas produjeron de 170 a 247 vainas por planta, que superan en un rango de 18 a 72 % al número promedio de vainas del

control (143 vainas; valor máximo). En términos generales, las 11 plantas seleccionadas presentaron una mayor frecuencia de vainas con una semilla, seguida de dos y tres semillas, en relación al control respectivamente (Figura 1). En este sentido, en 200 Gy se identificó la planta 123-1, con el mayor número de vainas con una semilla (145 vainas) comparado con el control (6 vainas). Mientras que a dosis de 50 y 100 Gy, las plantas 8-1, 11-2 y 13-1, se cuantificaron más de 100 % de vainas con dos semillas respecto al control (126, 101 y 112 %). Asimismo, en dosis de 200 y 250 Gy las plantas 130-1 y 202-1, presentaron el mayor incremento de vainas con tres semillas (36.95 %). Finalmente, el mayor número de vainas se obtuvo en la planta 123-1 en dosis de 200 Gy (247 vainas).

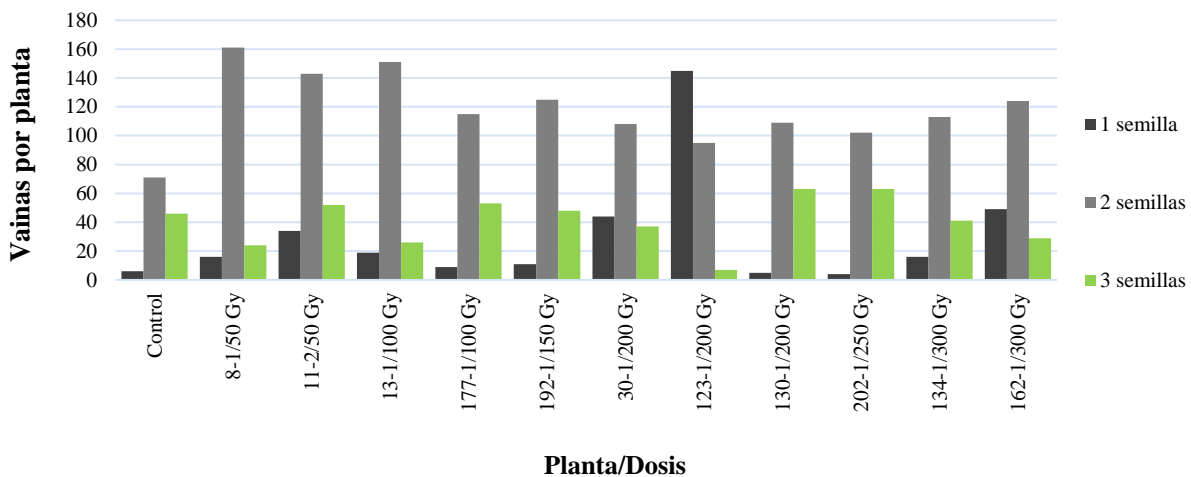


Figura 1. Número vainas producidas en las plantas de soya seleccionadas de la población M2 y en el tratamiento control genotipo H10-2416.

Respecto a las plantas M2 de soya Huasteca 400, se seleccionaron 15 plantas con características sobresalientes de rendimiento en dosis de 50, 150, 200, 350 y 450 Gy. Estas plantas produjeron desde 73 hasta 139 vainas, que superan en 17.74 y 124.19 % al número de vainas en el control (62 vainas; valor máximo). De igual manera que en el genotipo H10-2416, se observó una

frecuencia de vainas diferente al control (Figura 2). En la planta seleccionada del control, no se observaron vainas con una semilla, sin embargo, en otras plantas del control se contabilizaron hasta 5 vainas con una semilla. Mientras en dosis de 150 Gy, la planta 123-4 presentó el mayor número de vainas con una semilla (20 vainas). En relación con el mayor número de vainas con dos semillas, en la dosis de 450 Gy las plantas 102-1 y 102-2 presentaron 70 y 100 vainas, en relación con las 25 vainas que se cuantificaron en la planta del tratamiento control. Asimismo, en dosis de 50 Gy en las plantas 12-1 y 12-4 se obtuvo el mayor número de vainas con tres semillas (56 y 59 vainas, respectivamente) comparado con el control (25 vainas). Finalmente, en dosis de 50, 200 y 350 Gy en las plantas 12-1, 55-1 y 118-1, se cuantificaron hasta 7 vainas con cuatro semillas, mientras que en el tratamiento control se cuantificaron 2 vainas. De acuerdo con lo anterior, en la planta 102-2 de la dosis de 450 Gy se contabilizó el mayor número de vainas por planta (139 vainas).

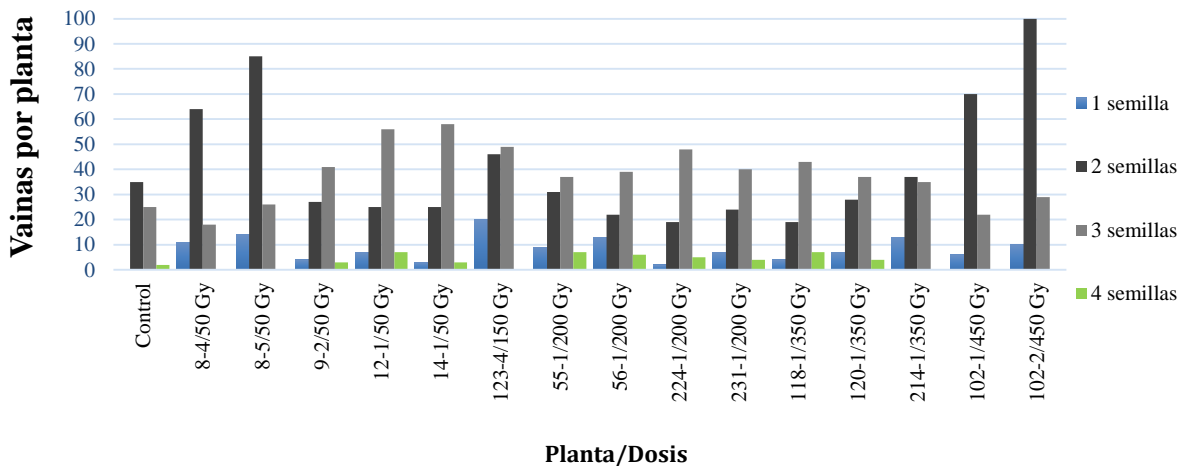


Figura 2. Número vainas producidas en las plantas de soya seleccionadas de la población M2 y en el tratamiento control variedad Huasteca 400.

Por otra parte, el número de semillas en las plantas M2 seleccionadas del genotipo H10-2416, osciló entre 356 hasta 476, que superan al valor máximo del control (286 semillas) en un rango de 24.47 hasta 66.43 % (Cuadro 6). Mientras en la variedad Huasteca 400 se registraron desde 190 hasta 297 semillas en las plantas seleccionadas, que superan al valor de máximo del control (143 semillas) en un rango de 24.18 hasta 94.11 % (Cuadro 7).

Las plantas 123-1 y 123-4 de las poblaciones M2 de H10-2416 y Huasteca 400, respectivamente, fueron superiores en rendimiento de grano con respecto a su control. La planta 123-1 identificada en la dosis de 200 Gy, superó en rendimiento de grano al valor máximo del control en 58.8 % (Figuras 3a y 3b, respectivamente). Esta planta presentó 42 días a inicio de floración, altura de 63.3 cm, 7 ramas, 14 nudos, 356 semillas, peso de 100 semillas de 22.63 g y rendimiento de semillas de 78.91 g.

En la variedad Huasteca 400, la planta 123-4 obtenida en 150 Gy, supero en rendimiento de grano al valor máximo del control, en 70.27 % (Figuras 4a y 4b, respectivamente). La planta seleccionada presentó 33 días a inicio de floración, altura de 35.5 cm, 4 ramas, 10 nudos, 259 semillas, peso de 100 semillas de 24.66 g y rendimiento de semillas de 53.14 g.

Cuadro 6. Componentes de rendimiento de plantas M2 seleccionadas del genotipo de soya H10-2416.

Parental/ Mutante	DOSIS (Gy)	DÍAS A R1	ALTP	NN	NR	NV	NS	P100S	RP	Incremento en
										relación al parental (%)
H10-2416	-	40	54.4	12	4	123	286	18.31	49.69	0.00
Mutante 8-1	50	44	54.0	13	4	201	410	15.22	64.83	30.47
Mutante 11-2	50	43	53.4	13	5	229	476	18.32	51.68	4.00
Mutante 13-1	100	44	77.2	14	6	196	399	19.60	71.98	44.86
Mutante 177-1	100	40	57.5	14	6	177	398	16.89	70.61	42.10
Mutante 192-1	150	40	69.7	14	6	184	405	17.26	58.78	18.29
Mutante 30-1	200	43	59.0	13	5	189	371	19.29	60.78	22.32
Mutante 123-1	200	42	63.3	14	7	247	356	22.63	78.91	58.80
Mutante 130-1	200	42	41.0	12	6	177	412	16.71	57.35	15.42
Mutante 202-1	250	40	53.4	14	7	169	397	15.17	54.25	9.18
Mutante 134-1	300	44	66.0	15	4	170	365	21.00	67.58	36.00
Mutante 162-1	300	40	50.4	13	7	202	384	20.36	74.24	49.41

R1=días a inicio de floración; ALTP=Altura de planta, cm; NN=Número de nudos; NR=Número de ramas; NV=Número de vainas; NS=Número de semillas; P100S=Peso de 100 semillas, g; y RP=Rendimiento de semillas por planta, g.



Cuadro 7. Componentes de rendimiento de plantas M2 seleccionadas de la variedad de soya Huasteca 400.

Parental/ Mutante	DOSIS (Gy)	DÍAS A R1	ALTP	NR	NN	NV	NS	P100S	RP	Incremento en
										relación al parental (%)
Huasteca 400	-	34	22.2	2	9	62	153	21.29	31.21	0.00
Mutante 8-4	50	34	36.2	3	12	93	193	26.00	50.83	62.86
Mutante 8-5	50	34	33.3	8	10	125	262	18.58	44.48	42.52
Mutante 9-2	50	34	42.1	3	12	75	193	17.70	30.77	-1.41
Mutante 12-1	50	33	35.6	3	8	95	253	21.65	49.94	60.01
Mutante 14-1	50	33	34.4	4	10	89	239	17.47	36.27	16.21
Mutante 123-4	150	33	35.5	4	10	115	259	24.66	53.14	70.27
Mutante 55-1	200	33	49.5	3	12	84	210	22.83	39.96	28.04
Mutante 56-1	200	33	47.8	3	12	80	198	21.19	42.9	37.46
Mutante 224-1	200	34	33	3	12	74	204	16.13	27.54	-11.76
Mutante 231-1	200	33	46.3	3	11	75	191	20.08	38.18	22.33
Mutante 118-1	350	34	40.5	3	11	73	199	23.10	43.26	38.61
Mutante 120-1	350	34	38.5	3	10	76	190	21.76	39.33	26.02
Mutante 124-1	350	33	54.2	2	11	85	192	19.52	35.67	14.29
Mutante 102-1	450	42	56.5	4	13	98	212	16.02	33.38	6.95
Mutante 102-2	450	44	51.3	4	13	139	297	14.13	42.25	35.37

R1=días a inicio de floración; ALTP=Altura de planta, cm; NR=Número de ramas; NN=Número de nudos; NV=Número de vainas; NS=Número de semillas; P100S=Peso de 100 semillas, g; y RP=Rendimiento de semillas por planta, g.

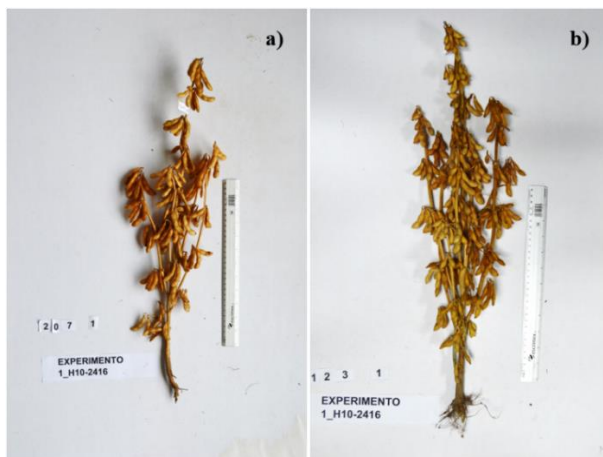


Figura 3. Aspecto de planta control y mutante M2 de soya genotipo H10-2416.

a). Planta control, y b). Planta mutante 123-1.



Figura 4. Aspecto de planta control y mutante M2 de soya Huasteca 400.

a). Planta control, y b). Planta mutante 123-4.

### 3.6. Discusión

En términos generales, se observó una respuesta diferencial del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, entre y dentro de las dosis aplicadas de radiación gamma  $Co^{60}$ . En el genotipo de soya H10-2416 con dosis de 50 Gy, se observó floración temprana (promedio) con

respecto al tratamiento control. Por efecto de la dosis de 50 Gy radiación gamma, se registró inicio de floración 5 días antes que el testigo. Mientras, en dosis de 200 y 300 Gy se observó floración tardía; tres y cuatro días después de la floración con respecto al tratamiento control. La identificación de floración temprana en las plantas de la generación M2 se ha reportado en *Brassica napus* L., con dosis de 150 Gy (Hassan y Abd-El-Haleem, 2014).

En muchos casos la floración temprana es un rasgo de interés en varios cultivos para el escape de condiciones desfavorables de ambiente y/o para acortar el ciclo productivo que lleva a una reducción del costo de producción. Sin embargo, Hisnson (1974) reporta que uno de los caracteres que debe reunir las variedades de soya para el trópico es el inicio de floración entre 42 y 45 días. Por lo tanto, el acortamiento de tiempo de la emergencia a floración es poco deseado en los mutantes para condiciones tropicales y cuyos parentales presentan días a floración idóneas; ya que se puede producir insuficiente área foliar, baja producción de fotosintatos y como consecuencia poca formación de vainas (Camacho, 1974); caso contrario para aquellos parentales que presentan inicio de floración tardía y se requieren destinar para condiciones tropicales.

Respecto a las plantas de soya Huasteca 400 de la generación M2, no presentaron floración temprana comparada con el tratamiento control, sin embargo, se identificó en dosis de 450 Gy floración un día después respecto con el control. Floración tardía por efecto de radiación gamma ha sido reportando en las accesiones de soya Kitoko y TGX 814-49D en dosis de 200 y 400 Gy (Mudibu et al., 2012) y en las variedades de *Eleusine coracana* Dapoli-1 y Dapoli Safed en dosis de 400 a 700 Gy (Ambavane et al., 2015). En términos genéticos, la floración tardía de las plantas de soya se debe a la expresión de los alelos recesivos e6 y j (Bonato y Vello, 1999; Ray et al., 1995).

No hubo diferencia significativa en el promedio de altura de planta de soya genotipo H10-2416 entre las dosis aplicadas y el control; sin embargo, el valor promedio de altura de planta fue menor con respecto al tratamiento control, con un comportamiento dinámico con el incremento de la dosis de radiación gamma. Estos resultados son consistentes con los reportados por Tshilenge-Lukanda et al. (2013) en la accesión de *Arachis hypogaea* L. JL12, en el rango de dosis de 100 hasta 400 Gy. Por otra parte, en la soya Huasteca 400 se determinó diferencia significativa en las dosis de radiación con respecto al control (excepto 150 Gy), con una tendencia de mayor altura de planta con el incremento de la dosis hasta 450 Gy. Esta tendencia también fue reportada por Mudibu et al. (2012) en la variedad de soya Vuangi, en dosis desde 200 hasta 400 Gy. Por el contrario, se observaron tendencias negativas con el incremento de dosis de radiación gamma en la generación M2 de soya variedad Co-1 desde 100 Gy hasta 600 Gy (Pavadai, 2015). Por lo tanto, es evidente que la respuesta diferencial de la altura de planta en las diferentes dosis depende del fondo genético del genotipo.

En relación al número promedio de vainas por planta de H10-2416, no se observó una tendencia definida de valores en función del incremento de radiación, pero se registró un incremento en 200 y 300 Gy. Resultados similares obtuvieron Hanafiah et al. (2010) y Mudibu et al. (2012), quienes reportan en dosis de 200 Gy, el mayor número de vainas producidas en la generación M2 de la variedad de soya Argomulyo, y accesiones Kitoko y Vuangi, respectivamente. Mientras, en la variedad Huasteca 400 no se observó incrementos significativos en el número de vainas por efecto de dosis, pero sí valores estadísticamente inferiores al control. En relación a este último, resultados contrastantes reportaron Gopinath y Padavai (2015), quienes obtuvieron un incremento

gradual del número de vainas en las plantas M2 de soya Co-1, con el aumento de la dosis de radiación gamma desde 100 a 500 Gy.

Respecto al promedio de número de semillas en los dos materiales genéticos de este estudio, la variedad de soya Huasteca 400 fue más afectada por la reducción de sus valores en las diferentes dosis con respecto al control. Los resultados en el número de semillas por planta en la generación M2, genotipo de soya H10-2416 para las diferentes dosis no fueron estadísticamente diferentes con respecto al parental, sin embargo, valores superiores con respecto al parental se obtuvieron en el rango de dosis de 50 hasta 300 Gy. Por su parte, Karthika y Subba-Lakshmi (2006), reportan en plantas M2 de soya CO2 en el rango de dosis de 200 hasta 400 Gy, valores superiores de número de semillas, mientras que a partir de 500 Gy hasta 600 Gy, observaron una tendencia hacia valores inferiores respecto al parental. En la variedad Huasteca 400, no se registró diferencia significativa para número de semillas en las dosis de 50, 250, 350 y 450 (control fue el tratamiento superior), mientras en las demás dosis, el número de semillas fue estadísticamente menor. Por su parte, Karthika y Subba-Lakshmi (2006) reportan en la variedad de soya CO1 valores inferiores de número de semillas por planta en el rango de dosis de 200 hasta 600 Gy.

No obstante a lo anterior, en líneas dentro de dosis se observó una mayor producción de vainas y semillas por planta en ambos materiales genéticos con relación a los parentales respectivos. En dosis de 50 y 300 Gy se identificaron las líneas con mayores valores promedio de número de vainas y semillas en el genotipo de soya H10-2416, mientras en la variedad Huasteca 400 fueron en dosis de 250 y 300 Gy. Esto puede ser debido al efecto diferencial de la radiación gamma entre las plantas de la generación M1 de una dosis específica (Kodym et al., 2012) y por la alta variación fenotípica y genotípica en la generación M2 (Ramchander et al., 2015; Hanafiah et al.,

2010; Pavadai et al., 2010). El número de semillas superior de las plantas mutantes de soya respecto a sus parentales, se ha relacionado con el incremento en altura y número de ramas por planta (Malek et al., 2014; Hanafiah et al., 2010; Tambee y Apparao, 2009), que presentan mayor número de nudos y por consiguiente mayor número unidades productivas.

Finalmente, dosis de 200 Gy en el genotipo de soya H10-2416 permitieron la obtención de un mutante potencial con 58.8 % más de rendimiento de grano en relación con el control, mientras que en la variedad Huasteca 400, dosis de 150 Gy permitieran la inducción de un mutante potencial con 70 % más de rendimiento de grano, respecto a su parental. Estos resultados confirman lo reportado por Maluszynski et al. (2009), quienes mencionan que dosis desde 100 hasta 200 Gy de rayos gamma o rayos X son exitosas para generar variación genética en leguminosas. No obstante a lo anterior, dosis desde 50 Gy hasta 300 Gy, pueden incrementar la variación genética para diferentes componentes de rendimiento en el genotipo de soya H10-2416. Para el caso de la variedad de soya Huasteca 400, dosis desde 50 Gy hasta 450 Gy, pueden ser útiles para este objetivo. Asimismo, es posible la obtención de mutantes potenciales con características sobresalientes de rendimiento respecto al parental con un número bajo de individuos en la generación M1.

### **3.7. Conclusiones**

Existe una respuesta diferencial de la soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400 bajo las diferentes dosis de radiación gamma y en líneas dentro de dosis para los componentes de rendimiento de las plantas M2.

El uso de radiación gamma es una herramienta importante para generar variación genética para los diferentes componentes de rendimiento en el cultivo de soya genotipo H10-2416 y variedad Huasteca 400.

Dosis de 150 y 200 Gy son efectivos para la generación de variación genética y selección de mutantes de alto rendimiento, específicamente para la variedad de soya Huasteca 400 y genotipo H10-2416.

Se identificó en la población M2 del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, los mutantes 123-1 y 123-4, respectivamente, como potenciales para rendimiento de grano para las condiciones edafoclimáticas prevalecientes en la zona productora de soya de la región del Soconusco, Chiapas.

### **3.8. Literatura citada**

Ambavane AR, Sawardekar SV, Sawantdesai SA, Gokhale NB (2015). Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 8: 120-125.

Auti SG (2013). Lhb Mutant-A novel mutant of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilezek) induced by gamma radiation. *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability*. 6: 87-93.

Boceng A, Haris A, Tjoneng A (2016). Character of local rice mutant 'Ase Banda' as result of gamma ray irradiation. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol*. 3:24-27.

Bonato ER, Vello NA (1999). E6, a dominant gene conditioning early flowering and maturity in soybeans. *Genet. Mol. Biol.* 22: 229-232.

Camacho LH (1974). Breeding soybeans for tropical conditions *In: Proceeding of the workshop on soybean for tropical and subtropical conditions.* INTSOY Series No. 2 University of Illinois Urbana. pp 55-64.

El-Degwy IS (2013). Mutation induced genetic variability in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences.* 5: 2789-2794.

Foster, B. P. and Shu, Q. Y. (2012) Plant mutagénesis in crop improvement: Basic terms and applications. *In: Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa H. (Eds.), Plant mutation breeding and biotechnology, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna.* pp: 9-20.

Gopinath P, Pavadai P (2015). Morphology and yield parameters and biochemical analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Mrr.) using gamma rays, EMS and DES treatment. *International Letters of Natural Sciences.* 35: 50-58.

Hanafiah DS, Trikoesoemaningtyas, Yahya S, Wirnas D (2010). Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean (*Glycine max*) variety. *Bioscience.* 2: 121-125.



Hassan MS, Abd-El-Haleem SHM (2014). Effectiveness of gamma rays to induce genetic variability to improve some agronomic traits of canola (*Brassica napus* L.). *Asian Journal of Crop Science*. 6: 123-132.

Hinson K (1974). Tropical productions of soybeans. *In: Proceedings of the workshop of soybean for tropical and subtropical conditions*. INSOY Series No. 2 University of Illinois, Urbana. pp 38-54.

Hyten DL, Song Q, Zhu Y, Choi IY, Nelson RL, Costa JM, Specht JE, Shoemaker RC, Cregan PB (2006). Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *PNAS*. 103: 16666-16671.

Karthika R, Subba-Lakshmi B (2006). Induced genetic variability for quantitative traits in M<sub>2</sub> soybean population. *Plant Archives*. 6: 325-327.

Kharkwal MC, Shu QY (2009). The role of induced mutations in world food security. *In: Shu QY (Ed), Induced plant mutations in the genomics era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. pp: 33-38.

Kodym A, Afza R, Forster BP, Ukai Y, Nakagawa H, Mba C (2012). Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. *In: Shu QY, Forster BP and Nakagawa H (Eds.), Plant Mutation Breeding and Biotechnology*, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 169-180.

Malek MA, Rafii MY, Shahida Sharmin Afroz M, Nath UK, Monjurul Alam Mondal M (2014). Morphological characterization and assessment of genetic variability, character association, and divergence in soybean mutants. *The Scientific World Journal*. 1-12. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/968796>

Maluszynski M, Szarejko I, Bhatia CR, Nichterlein K, Lagoda P (2009). Methodologies for generating variability Part 4: Mutation techniques. In: Ceccarelli, S., E. P. Guimarães and Weltzien, E. (Eds.), *Plant breeding and farmer participation*, edit. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma. pp: 159-194.

Manjaya JG (2009). Genetic improvement of soybean variety VLS-2 through induced mutations. In: *Induced plant mutations in the genomics era*. Shu QY (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp: 106-110.

Mudibu J, Nkongolo KKC, Kalonji-Mbuyi A, Kizungu RV (2012). Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). *American Journal of Plant Sciences*. 3: 331-337.

Pavadai P (2015). Studies on quantitative characters for gamma rays treatment in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) var. Co-1. *International Journal of Modern Cellular and Molecular Biology*. 4: 1-10.

Pavadai P, Giriya M, Dhanavel D (2010). Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M2, M3 and M4 Generation. *Journal of Experimental Sciences*. 1: 08-11.

Pooja K, Srivastava R (2015). Induction of genetic variability and isolation of mutants in tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *Tropical Agricultural Research*. 26: 721-732.

Ramchander S, Ushakumari R, Arumugam-Pillai A (2015). Prediction of variability estimates in mutant populations of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Plant and Soil Research*. 17: 106-110.

Ray JD, Hinson K, Mankono EB, Malo FM (1995). Genetic control of a long-juvenile trait in soybean. *Crop Sci*. 35: 1001-1006.

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2016). Balanza comercial agroalimentaria Enero-Junio 2016. [http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/sagarpa/Documents/2016\\_08\\_18\\_Balanza\\_Agroalimentaria\\_enero\\_junio\\_EU.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/sagarpa/Documents/2016_08_18_Balanza_Agroalimentaria_enero_junio_EU.pdf).

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2016). Producción agrícola de soya en el año 2016. <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>.

Suliman S, Van Ha C, Nasr Esfahani M, Watanabe Y, Nishiyama R, Pham CT, Nguyen DV, Lam-Son PT (2015). DT2008: a promising new genetic resource for improved drought tolerance

in soybean when solely dependent on symbiotic N<sub>2</sub> fixation. *BioMed Res. Int.* 2015: 1-7 DOI: [10.1155/2015/687213](https://doi.org/10.1155/2015/687213).

Tambe AB, Apparao BJ (2009). Gamma-ray induced mutations in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] for yield-contributing traits. In: *Induced plant mutations in the genomics era*. Shu QY (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp: 95-96.

Tshilenge-Lukanda L, Kalonji-Mbuyi A, Nkongolo KKC, Kizungu R (2013). Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) *American Journal of Plant Sciences*. 4: 2186-2192.

## CAPITULO IV. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

### 4.1. Discusión general

La mutagénesis inducida ha sido un método importante para generar variación genética que puede ser usada directa o indirectamente en los programas de mejoramiento de plantas (Oladosu *et al.*, 2016), especialmente en cultivos que se reportan con reducida base genética, como la soya (Hyten *et al.*, 2006). Un estudio básico en la mutagénesis inducida es la determinación de la dosis óptima del mutágeno para generar mutaciones deseables en el genotipo de interés principalmente en la generación M2, la cual se ha relacionado con el rango de dosis que provocan una mortalidad de plantas o la disminución de la altura de planta en la generación M1 en un rango de 30 a 50 %, con respecto al tratamiento control (Kodym *et al.*, 2012).

Los resultados del estudio de radiosensibilidad de semillas de soya a las dosis aplicadas de radiación gamma  $Co^{60}$ , revelaron una disminución del valor de las variables de estudio de H10-2416 y Huasteca 400 con el aumento de la dosis de radiación gamma (excepto germinación en H10-2416). Asimismo, en términos generales, H10-2416 fue más tolerante a la radiación que Huasteca 400. Esta respuesta diferencial de tolerancia a los rayos gamma puede ser debido al fondo genético, tal como reportan Olasupo *et al.* (2016) en *Vigna unguiculata*.

La sobrevivencia de plantas y la producción de semillas de soya de la generación M1, es un parámetro importante para la estimación del número de plantas que conformará la generación M2, donde la variación fenotípica y genotípica divergirá respecto al parental. En diversos estudios de radiosensibilidad se reporta un incremento de la mortalidad de las plantas M1 con el aumento de la dosis aplicada de radiación gamma (Agisimanto *et al.*, 2016; Sidhya y Pandit,

2015; Yadav, 2015). Los resultados obtenidos de sobrevivencia corroboran trabajos previos en este t3pico. En este sentido, en el genotipo de soya H10-2416, se obtuvo diferencia no significativa en relaci3n al control, sin embargo, en la dosis m3xima (500 Gy), se calcul3 17.49 % de mortalidad de plantas. En Huasteca 400, se obtuvo 50 y 71.41 % de mortalidad de las plantas en dosis de 450 y 500 Gy. La mortalidad de las plantas M1 por la dosis aplicada de radiaci3n gamma puede ser debido al da3o directo en los cromosomas o indirecto a trav3s del estr3s oxidativo del ox3geno reactivo, el cual provoca un disturbio funcional o inhibici3n de macromol3culas vitales, como hormonas de crecimiento (auxinas), prote3nas, l3pidos y 3cidos nucleicos. El nivel de da3o en el material gen3tico por efecto de la dosis de rayos gamma, se ha atribuido a factores como el genotipo, contenido de ADN, nivel de ploid3a, contenido de humedad y fase del ciclo celular (Kahziri *et al.*, 2012; Lagoda, 2012; Magori *et al.*, 2010; Yamaguchi *et al.*, 2010).

La altura de planta en H10-2416 y Huasteca 400 en la fase de iniciaci3n de floraci3n (R1) present3 una tendencia hacia valores inferiores con el aumento de la dosis de radiaci3n gamma. En ambos materiales, diferencias significativas se obtuvieron a partir de dosis de 300 Gy y los valores m3s bajos en dosis de 500 Gy. Estos resultados confirman lo reportado en pimiento morr3n (Sood *et al.*, 2016), en los genotipos de arroz Ashfal y Binadhan-14 (Rani *et al.*, 2016) y en *Vigna unguiculata* accesi3n IB-BPC (Olasupo *et al.*, 2016). Asimismo, a partir de dosis de 300 a 500 Gy, se observ3 una tasa de crecimiento menor al tratamiento control de cada material, as3 como, una tasa m3xima tard3a de crecimiento en altura de la planta, los cuales est3n relacionados con una menor tasa de divisi3n celular. Lagoda (2012), indica que la destrucci3n de muchas enzimas por la radiaci3n contribuye a una baja divisi3n celular y crecimiento de la planta.

En las variables analizadas en la generación M1, el parámetro número de semillas por planta fue más radio-sensible a los rayos gamma, respecto a germinación, sobrevivencia y altura de planta. Asimismo, con base en la  $DL_{30}$  y  $GR_{30}$ , el rango de dosis de los parámetros estimados para evaluar la radiosensibilidad en Huasteca 400 fue entre 141.99 y 372.23 Gy, mientras que en H10-2416 fue más amplio entre 241.48 hasta 541 Gy.

La  $DL_{50}$  es el estimador más utilizado en la generación M1 como la dosis óptima que permite inducir variación genética con el mínimo de efectos no deseados. Sin embargo, para el caso específico del genotipo de soya H10-2416, aun cuando sólo se predijo la  $DL_{30}$  (557 Gy), en dosis de 500 Gy se observó 22 % de efectos no deseados relacionados con la esterilidad, por lo que, la  $GR_{30}$ , fue el mejor estimador para la dosis óptima de radiación (3 % de plantas asociadas con esterilidad). En función de la  $GR_{30}$  en la altura de planta, las dosis de 368 y 414 Gy  $\pm$  5 % pueden ser útiles para inducir variación genética específicamente en la variedad soya Huasteca 400 y genotipo H10-2416, con el mínimo de efectos no deseados en la producción de semillas.

En la generación M2 de plantas del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, se observó una amplia variación morfológica, tal como se ha reportado en varios cultivos (Ramchander *et al.*, 2015; Hanafiah *et al.*, 2010; Pavadai *et al.*, 2010). En términos generales, se determinó una respuesta bidireccional de los valores de días a floración, altura de planta, número de vainas y semillas por efecto de la dosis de radiación gamma. Asimismo, respuesta diferencial del genotipo en las variables de estudio en función de la dosis.

En el genotipo de soya H10-2416 en la generación M2 con dosis de 50 Gy, se observó floración temprana (promedio) con respecto al tratamiento control. Por efecto de la dosis aplicada de radiación gamma, se registró inicio de floración 5 días antes que el testigo. Mientras, en dosis de 200 y 300 Gy se observó floración tardía; tres y cuatro días después de la floración con respecto al tratamiento control. La identificación de floración temprana en las plantas de la generación M2 se ha reportado en *Brassica napus* L., con dosis de 150 Gy (Hassan y Abd-El-Haleem, 2014).

Sin embargo, para las condiciones edafoclimáticas prevalecientes de la región productora de soya del Soconusco, Chiapas, floración temprana es poco deseado en los mutantes para condiciones tropicales y cuyos parentales presentan días a floración idóneas; ya que se puede producir insuficiente área foliar, baja producción de fotosintatos y como consecuencia poca formación de vainas.

En el promedio de altura de planta en la generación M2, se observó en las diferentes dosis de radiación gamma valores inferiores en el genotipo de soya H10-2416, el cual es de mayor altura de planta en relación a la variedad Huasteca 400. Mientras que esta última, se registró un valor superior de altura de planta en las diferentes dosis de radiación. La altura de planta del genotipo de soya H10-2416, fue estadísticamente similar entre las dosis aplicadas y el tratamiento control; sin embargo, el valor promedio de altura de planta fue menor con respecto al tratamiento control, con un comportamiento dinámico con el incremento de la dosis de radiación gamma. Estos resultados son consistentes con los reportados por Tshilenge-Lukanda *et al.* (2013) en la accesión de *Arachis hypogaea* L. JL12, en el rango de dosis de 100 hasta 400 Gy. Por otra parte, en la soya Huasteca 400 se determinó diferencia significativa en las dosis de radiación con respecto al control (excepto 150 Gy), con una tendencia de mayor altura de planta con el incremento de la



dosis hasta 450 Gy. Esta tendencia también fue reportada por Mudibu *et al.* (2012) en la variedad de soya Vuangi, en dosis desde 200 hasta 400 Gy. Por el contrario, se observaron tendencias negativas con el incremento de dosis de radiación gamma en la generación M2 de soya variedad Co-1 desde 100 Gy hasta 600 Gy (Pavadai, 2015). Por lo tanto, es evidente que la respuesta diferencial de la altura de planta en las diferentes dosis depende del fondo genético del genotipo.

Los resultados en el número de semillas por planta en la generación M2, genotipo de soya H10-2416 para las diferentes dosis no fueron estadísticamente diferentes con respecto al parental, sin embargo, valores superiores con respecto al parental se obtuvieron en el rango de dosis de 50 hasta 300 Gy. Por su parte, Karthika y Subba-Lakshmi (2006), reportan en plantas M2 de soya CO2 en el rango de dosis de 200 hasta 400 Gy, valores superiores de número de semillas, mientras que a partir de 500 Gy hasta 600 Gy, observaron una tendencia hacia valores inferiores respecto al parental. En la variedad Huasteca 400, no se registró diferencia significativa para número de semillas en las dosis de 50, 250, 350 y 450 (control fue el tratamiento superior), mientras en las demás dosis, el número de semillas fue estadísticamente menor. Por su parte, Karthika y Subba-Lakshmi (2006) reportan en la variedad de soya CO1 valores inferiores de número de semillas por planta en el rango de dosis de 200 hasta 600 Gy.

No obstante a lo anterior, en líneas dentro de dosis se observó una mayor producción de vainas y semillas por planta en ambos materiales bajo estudio con relación a los parentales respectivos. En dosis de 50 y 300 Gy se identificaron las líneas con valores promedio mayores en número de vainas y semillas en el genotipo de soya H10-2416, mientras en la variedad Huasteca 400 fueron en dosis de 250 y 300 Gy. Esto puede ser debido al efecto diferencial de la radiación gamma entre las plantas de la generación M1 de una dosis específica (Kodym *et al.*, 2012) y por la alta

variación fenotípica y genotípica en la generación M2 (Ramchander *et al.*, 2015; Hanafiah *et al.*, 2010; Pavadai *et al.*, 2010). El número de semillas de las plantas mutantes de soya fue superior respecto a sus parentales, esto se ha relacionado con el incremento en altura y número de ramas por planta (Malek *et al.*, 2014; Hanafiah *et al.*, 2010; Tambee y Apparao, 2009), que presentan mayor número de nudos y por consiguiente mayor número unidades productivas.

Mientras que dosis de 150 Gy en el genotipo de soya H10-2416 permitió la obtención de un mutante potencial con 58.8 % más de rendimiento de grano en relación con el control y, la variedad Huasteca 400, la dosis de 200 Gy permitió la inducción de un mutante potencial con 70 % más de rendimiento de grano, respecto a su parental. No obstante a lo anterior, dosis desde 50 Gy hasta 300 Gy, pueden incrementar la variación genética para diferentes componentes de rendimiento en el genotipo H10-2416. Para la variedad de soya Huasteca 400, dosis desde 50 Gy hasta 450 Gy, pueden ser útiles para este objetivo. Asimismo, es posible la obtención de mutantes potenciales con características sobresalientes de rendimiento respecto al parental con un número bajo de individuos en la generación M1.

## **4.2. Conclusiones**

Las plantas de soya genotipo H10-2416 en la generación M1 fueron más tolerantes a la radiación gamma en las variables de germinación, sobrevivencia, altura de planta y número de semillas por planta, que la variedad Huasteca 400. En función de la GR<sub>30</sub> para altura de planta, dosis de 368 y 414 Gy  $\pm$  5 % pueden ser útiles para inducir variación genética en la soya variedad Huasteca 400 y genotipo H10-2416, con el mínimo de efectos no deseados.

El uso de radiación gamma en dosis de 150 y 200 Gy, induce variación genética de interés en la generación M2 para caracteres de rendimiento, específicamente para la variedad de soya Huasteca 400 y el genotipo H10-2416 y, respectivamente.

Se identificó en la población M2 del genotipo de soya H10-2416 y variedad Huasteca 400, las plantas mutantes 123-1 y 123-4, respectivamente, como potenciales para rendimiento de grano para las condiciones edafoclimáticas prevalecientes en la zona productora de soya de la región del Soconusco, Chiapas.

### 4.3. Literatura citada

- Agisimanto D., N. M. Noor, R. Ibrahim and M. Mohamad (2016)** Gamma irradiation effect on embryogenic callus growth of *Citrus reticulata* cv. Limau Madu. Sains Malaysiana 45: 329-337.
- Hanafiah D.S., Trikoesoemaningtyas, S. Yahya and D. Wirnas (2010)** Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean (*Glycine max*) variety. Bioscience, 2: 121-125.
- Hassan M. S. and S. H. M. Abd-El-Haleem (2014)** Effectiveness of gamma rays to induce genetic variability to improve some agronomic traits of canola (*Brassica napus* L.). Asian Journal of Crop Science, Asian Journal of Crop Science 6: 123-132.
- Hyten, D. L., Q. Song, Y. Zhu, I. Y. Choi, R. L. Nelson, J. M. Costa, J. E. Specht, R. C. Shoemaker and P. B. Cregan (2006)** Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. PNAS 103: 16666-16671.
- Kahrizi Z. A., M. J. Kermani and M. Amiri (2012)** Effect of gamma rays on nuclear DNA content in different rose genotypes. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3: 1155-1160.
- Karthika R. and B. Subba-Lakshmi (2006)** Induced genetic variability for quantitative traits in M<sub>2</sub> soybean population. Plant Archives 6(1): 325-327.
- Kodym A., R. Afza, B. P. Forster, Y. Ukai, H. Nakagawa and C. Mba (2012)** Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. *In: Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Shu Q. Y., Forster B. P. and Nakagawa H. (Eds.). Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 169-180.

- Lagoda P. J. L. (2012)** Effects of radiation on living cells and plants. *In: Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Shu Q. Y., Forster B. P. and Nakagawa H. (Eds.). Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency, Vienna. pp: 123-134.
- Magori S., A. Tanaka and M. Kawaguchi (2010)** *In: The Handbook of Plant Mutation Screening*. G. Kahl and K. Meksem (Eds). Copyright, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. pp. 5-15.
- Malek M. A., M. Y. Rafii, M. S. S. Afroz, U. K. Nath and M. M. A. Mondal (2014)** Morphological characterization and assessment of genetic variability, character association, and divergence in soybean mutants. *The Scientific World Journal* 1-12, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/968796>.
- Mudibu J., K. K. C. Nkongolo, A. Kalonji-Mbuyi and R. V. Kizungu (2012)** Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). *American Journal of Plant Sciences* 3: 331-337.
- Oladosu Y., M. Y. Rafii, N. Abdullah, G. Hussin, A. Ramli, H. A. Rahim, G. Miah and M. Usman (2016)** Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30: 1-16, <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2015.1087333>.
- Olasupo F. O., C. O. Ilori, B. P. Forster and S. Bado (2016)** Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *American Journal of Plant Sciences* 7: 339-351.
- Pavadai P (2015)** Studies on quantitative characters for gamma rays treatment in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) var. Co-1. *International Journal of Modern Cellular and Molecular Biology* 4: 1-10.

- Pavadai P., M. Girija and D. Dhanavel (2010)** Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M2, M3 and M4 Generation. *Journal of Experimental Sciences* 1: 08-11.
- Ramchander, S. R. Ushakumari and M. Arumugam-Pillai (2015)** Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. *Indian J. Agric. Res.* 49: 24-31.
- Rani M. H., M. Kamruzzaman, A. M. A. Ghanim, M. A. K. Azad, and M. B. Akter (2016)** Comparative effect of gamma and X-ray irradiations on some characters of rice seedlings of Ashfal and Binadhan-14. *Journal of Bioscience and Agriculture Research* 08: 739-745.
- Sidhya P. and M. K. Pandit (2015)** Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays in snake gourd (*Trichosanthes anguina* L.). *Journal of Applied and Natural Science* 7: 649-651.
- Sood S., S. J. Jambulkar, A. Sood, N. Gupta, R. Kumar and Y. Singh (2016)** Median lethal dose estimation of gamma rays and Ethyl Methane Sulphonate in bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 48: 528-535.
- Tambe A. B. and B. J. Apparao (2009)** Gamma-ray induced mutations in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] for yield-contributing traits. *In: Induced plant mutations in the genomics era.* Shu Q. Y. (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. pp: 95-96.
- Tshilenge-Lukanda L., A. Kalonji-Mbuyi, K. K. C. Nkongolo and R. Kizungu (2013)** Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) *American Journal of Plant Sciences* 4: 2186-2192.
- Yadav V. (2016)** Effect of gamma radiation on various growth parameters and biomass of *Canscora decurrens* Dalz. *International Journal of Herbal Medicine* 4: 109-115.

**Yamaguchi H., A. Shimizu, Y. Hase, A. Tanaka, N. Shikazono, K. Deni and T. Morishita**

**(2010)** Effect of ion beam irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in Chrysanthemum. *Breeding Science* 60: 398-404.