

*Revista Electrónica Nova Scientia*

Dosis óptima de irradiación gamma con Co<sup>60</sup>  
para inducción de mutagénesis en pastos  
Optimal dose of gamma irradiation with <sup>60</sup>Co for  
mutagenesis induction in grasses

**Alan Álvarez-Holguín<sup>1</sup>, Raúl Corrales-Lerma<sup>1</sup>,  
Carlos Raúl Morales-Nieto<sup>1</sup>, Carlos Hugo Avendaño  
Arrazate<sup>2</sup> y Federico Villarreal-Guerrero<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua,  
Chihuahua.

<sup>2</sup> Instituto del Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias  
(INIFAP). Campo Experimental Rosario Izapa. Tuxtla Chico, Chiapas.

---

**México**

*Carlos Raúl Morales-Nieto.* E-mail: [cnieta@uach.mx](mailto:cnieta@uach.mx)

© Universidad De La Salle Bajío (México).

## Resumen

La dosis letal ( $DL_{50}$ ) y reducción media del crecimiento ( $RC_{50}$ ) son parámetros utilizados para seleccionar dosis de radiación adecuadas e inducir mutaciones para realizar mejoramiento genético vegetal. El objetivo fue determinar la  $DL_{50}$  y  $RC_{50}$  para conocer la dosis óptima de radiación con  $Co^{60}$  en semilla de pasto llorón, buffel, banderita y navajita. Se evaluaron seis dosis de radiación con  $Co^{60}$  en semilla: 100, 200, 300, 450, 600 y 900 Gray (Gy) y un tratamiento control (T-0, sin radiación). Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación (%GE), índice de velocidad de germinación (IVG), longitud de plúmula (LP) y longitud de radícula (LR). Se realizó análisis de regresión y comparación de medias con la prueba de Dunnett. Mediante la ecuación de regresión se estimó la  $DL_{50}$  para el %GE, así como  $RC_{50}$  para el resto de las variables. La  $DL_{50}$  se ponderó con 55%, mientras que la  $RC_{50}$  se ponderó en 15% para cada una de las tres variables restantes. En general, los valores de las variables disminuyeron ( $P<0.05$ ) conforme se incrementó la dosis de radiación, lo cual permitió determinar la  $DL_{50}$  y  $RC_{50}$  para cada especie. La media ponderada se obtuvo a los 628 Gy, 712 Gy, 698 Gy y 411 Gy para pasto llorón, buffel, banderita y navajita, respectivamente. Se recomiendan las dosis planteadas en este estudio, ya que esto permitirá plantear las bases para realizar mejoramiento genético a través de mutagénesis con radiación gamma en los pastos evaluados.

**Palabras Clave:** radiosensibilidad; inducción de variabilidad; mejoramiento de pastos

Recepción: 24-02-2017

Aceptación: 31-05-2017

## Abstract

In plant breeding programs, the lethal dose (LD<sub>50</sub>) and the median growth reduction (GR<sub>50</sub>) are parameters used to determine appropriate irradiation doses to induce effective mutations. The objectives were to determine the LD<sub>50</sub> and GR<sub>50</sub> on seeds irradiated with cobalt 60 (<sup>60</sup>Co) of blue grama (*Bouteloua gracilis*), sideoats grama (*Bouteloua curtipendula*), buffel grass (*Pennisetum ciliare*) and weeping lovegrass (*Eragrostis curvula*), as well as determine a weighted average of the LD<sub>50</sub> and GR<sub>50</sub>. Seeds of these species were irradiated with Co<sup>60</sup> at seven different doses were evaluated. Doses intensities included: 0 (control, T-0), 100, 200, 300, 450, 600 and 900 Gray (Gy). The variables evaluated were germination percentage (%GE), speed germination index (IVG), plumule length (LP) and radicle length (LR). Regression analysis and means comparison with the Dunnett test were performed with the data. In addition, LD<sub>50</sub> was estimated through a regression equation on the data of %GE while the GR<sub>50</sub> was calculated with the reamaining variables. Moreover, a weighted average was calculated with the values obtained from both parameters. The LD<sub>50</sub> was weighted at 55%, while the GR<sub>50</sub> was weighted at 15% for each of the three remaining variables. In general, the values of all the response variables decreased (P<0.05) as the irradiation doses increased, which allowed the estimation of LD<sub>50</sub> and GR<sub>50</sub>, for each species. The weighted average was obtained at 628 Gy, 712 Gy 698 Gy and 411 Gy for weeping lovegrass, buffel grass, sideoats grama and blue grama, respectively. We do recommend the use of these doses in plant breeding programs of these species.

**Keywords:** cobalt 60; germination; gamma rays; mutagenesis; radiosensitivity

## Introducción

La irradiación gamma en semillas puede ser utilizada como agente mutagénico para inducir variabilidad genética en las plantas e inducir variabilidad fenotípica, que permita seleccionar plantas con características deseables. No obstante, antes de comenzar un programa de mejoramiento genético mediante mutagénesis, es necesario establecer las dosis de irradiación con mayor probabilidad de producir mutaciones efectivas. Diversos investigadores concuerdan en que existe mayor probabilidad de producir mutaciones efectivas para hacer mejoramiento genético con dosis donde mueren el 50% de los individuos irradiados (Morela *et al.*, 2002; Golubinova y Gecheff, 2011; Ángeles-Espino *et al.*, 2013); esto es conocido como dosis letal media ( $DL_{50}$ ). Por otro lado, investigadores como Akgüm y Tosun (2004) y Khalil *et al.* (2014), señalan que en dosis donde existe alta probabilidad de encontrar mutaciones efectivas, es cuando se reduce el crecimiento 50% ( $RC_{50}$ ). Por otra parte, el genoma sufre múltiples impactos con dosis altas que producen aberraciones o cambios negativos comúnmente (Songsri *et al.*, 2011; Thole *et al.*, 2011).

Los pastos navajita (*Bouteloua gracilis*), banderita (*Bouteloua curtipendula*), buffel (*Pennisetum ciliare*) y llorón (*Eragrostis curvula*) son algunas especies con potencial para ser utilizadas en programas de revegetación para zonas áridas y semiáridas (Moreno-Gómez *et al.*, 2012; Sáenz-Flores *et al.*, 2015). No obstante, estas especies presentan problemas que pueden mejorarse mediante herramientas biotecnológicas. Las especies nativas de alto valor forrajero como navajita y banderita han presentado problemas para establecerse en programas de rehabilitación de pastizales (Melgoza-Castillo *et al.*, 2007). Ante esto, se ha optado por utilizar especies introducidas con mayor potencial de establecimiento como buffel y llorón. Sin embargo, comparadas con algunas nativas, estas presentan menor valor forrajero y el ganado las prefiere menos (Quero *et al.*, 2007). En este sentido, las especies mencionadas pueden ser sometidas a programas de mejoramiento. Éste puede llevarse a cabo a través de mutagénesis mediante irradiación gamma, ya que esta técnica ha demostrado ser eficiente para inducir mutaciones, aun en genomas complejos como los de las gramíneas (Ousmane *et al.*, 2013; Ambli y Mullainathan, 2014). No obstante, a la fecha se desconoce la dosis de irradiación gamma con mayor probabilidad de producir mutaciones efectivas en estas especies. Por lo anterior, el objetivo fue determinar la  $DL_{50}$  y  $RC_{50}$  para conocer la dosis óptima de irradiación en semilla de pasto llorón, buffel, banderita y navajita. Este estudio facilitará la inducción de nuevo material genético de

interés agronómico y ecológico, que pueda utilizarse en programas de revegetación en áreas degradadas.

## Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en condiciones de laboratorio. El germoplasma utilizado fue semilla irradiada con Co<sup>60</sup> de los pastos navajita, banderita, buffel y llorón. Se plantearon seis dosis de irradiación con Co<sup>60</sup>: 100, 200, 300, 450, 600, 900 Gray (Gy) y un tratamiento control (T-0, sin irradiar). Los tiempos de exposición para las dosis evaluadas fueron determinados utilizando el sistema Gafchromic dosimetry (Li *et al.*, 1995) y una cámara de ionización marca RADCAL modelo Acudose No. de serie 4094118, USA. La irradiación de la semilla se realizó en el Complejo MOSCAFRUT SAGARPA/IICA en Metapa de Domínguez, Chiapas, con la colaboración del Campo Experimental Rosario Izapa, INIFAP, Chiapas, México. Las dosis se aplicaron en un irradiador panorámico tipo Gamma Beam Modelo GB-127 MDS Nordion, con fuente de almacenamiento en seco y actividad de 15,000 Curies de <sup>60</sup>Co.

Para evaluar el efecto por irradiación, se realizaron pruebas de germinación. Además, se analizó la viabilidad de las semillas del tratamiento control mediante tetrazolio (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>), para verificar si se presentó efecto de radiestimulación. Para las pruebas de germinación se irradió semilla comercial adquirida en Seed Curtis & Curtis, INC. Las especies utilizadas fueron navajita variedad (var.) Hachita; banderita var. Vaughn; llorón var. Ermelo; y buffel var. T-4464. De la semilla irradiada se tomaron cuatro muestras al azar por especie y se separaron glumas, lemma y palea, para utilizar solamente la cariópside desnuda. La prueba de germinación se llevó a cabo en cajas Petri de 90 mm de diámetro, provistas de algodón y papel filtro y se incluyeron cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue la caja Petri con 50 semillas. Cada repetición fue humectada con 25 ml de agua destilada al inicio de la prueba y posteriormente se suministraron riegos por aspersión de 2.0 ml cada dos días, durante los 20 d de la experimentación. Las cajas Petri se colocaron en incubadora Precision Scientific, modelo 6M a temperatura de 26 ± 2 °C. Se consideró semilla germinada aquella que alcanzó 0.5 cm de plúmula o de radícula. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación (%GE); índice de velocidad de germinación (IVG); longitud de radícula (LR); y longitud plúmula (LP). Para obtener LR y LP se dejaron crecer tres plántulas por caja Petri durante siete días después de germinadas. El IVG se calculó mediante la ecuación propuesta por Maguire (1962):

$$\text{IVG} = \sum n_i/t$$

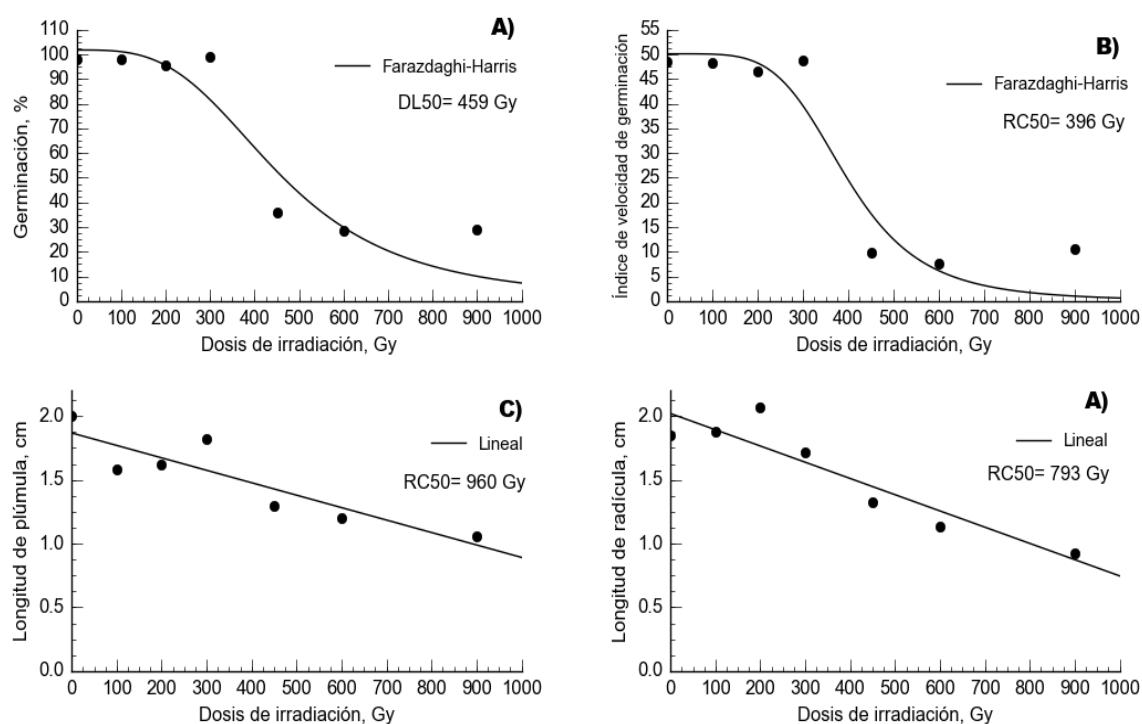
Donde: IVG = índice de velocidad de germinación;  $n_i$  = número de semillas germinadas por día;  $t$  = día de la germinación.

Las semillas del tratamiento control fueron evaluadas mediante la prueba de viabilidad con tetrazolio al 1%. Para esto, se utilizaron cuatro repeticiones de 25 cariópsides seleccionadas al azar, las cuales fueron colocadas en la solución durante 8 h y se visualizaron en un estereoscopio Zeiss, modelo Stemi DV4. Las semillas fueron consideradas viables cuando presentaron una tinción purpura. Al aplicar la prueba del tretrazolio, la semilla utilizada presentó un 92% de viabilidad para el pasto llorón, 68% en buffel, 92% en banderita y 88% en navajita. El porcentaje de viabilidad en llorón, buffel y banderita concuerda con su porcentaje de germinación. Sin embargo, el pasto navajita presentó 20% menos de germinación al compararla con la viabilidad obtenida. Por otro lado, la semilla de todas las especies evaluadas presentó bajo contenido de humedad. El pasto llorón presentó 6.74%, el buffel 3.59%, el banderita 4.63% y el navajita 3.92% de humedad. Además, se determinó el porcentaje de humedad en la semilla a través de secado en una estufa Precision Scientific, modelo 6M a temperatura constante de 90 °C por 48 h. La semilla seca se pesó en una balanza analítica de la marca Viper BC, Mettler Toledo y el porcentaje de humedad se calculó por diferencia de pesos.

Los datos fueron analizados mediante regresión lineal para cada variable y especie por separado. El modelo que mejor se ajustó a los datos fue determinado mediante el software CurveExpert 2.6. Los criterios de evaluación utilizados fueron el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y el criterio de información de Akaike corregido (AICc). La significancia de los modelos se obtuvo mediante el PROC REG de SAS (2006). Además, se realizó una comparación de medias con la prueba de Dunnett (1955), a un nivel de significancia de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ). Con la ecuación de regresión estimada fue obtenida la  $DL_{50}$ , con base en %GE y  $RC_{50}$ , de acuerdo con IVG, LR y LP. Debido a que los valores de  $DL_{50}$  y  $RC_{50}$  presentaron un amplio rango de variación, se optó por calcular una media ponderada con los resultados de  $DL_{50}$  y  $RC_{50}$  obtenidos de las 4 variables evaluadas. La  $DL_{50}$  se ponderó con 55%, mientras que los valores de  $RG_{50}$  se ponderaron con 15% cada uno. Cabe señalar que la mayor ponderación se le dio a la germinación, ya que la muerte del individuo es el máximo daño que puede producir la irradiación.

## Resultados

En pasto llorón, el comportamiento del porcentaje de germinación y el índice de velocidad de germinación se ajustó a un modelo de rendimiento-densidad conocido como Farazdaghi-Harris ( $P<0.0001$ ). Esto debido a que con incremento de dosis de irradiación de 300 a 450 Gy, la germinación decayó de 98 a 36% (Figura 1). Por otro lado, el comportamiento lineal fue significativo ( $P<0.0001$ ) para longitud de plúmula y longitud de radícula (Cuadro 1). En esta especie, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fluctuaron desde 0.79 hasta 0.9. Además, las dosis de 600 y 900 Gy fueron las únicas que presentaron diferencias ( $P<0.05$ ) con respecto al testigo en todas las variables evaluadas (Cuadro 2). La  $DL_{50}$  se encontró a 459 Gy, mientras que la  $RC_{50}$  se obtuvo a 396 Gy para el IVG, 960 Gy para LP y 793 Gy para LR. Por lo anterior, la media ponderada de las dosis medias se obtuvo a los 574 Gy.



**Figura 1.** Irradiación con Co<sup>60</sup> en semilla de pasto llorón (*Eragrostis curvula*) y su efecto en comportamiento del porcentaje de germinación (a), índice de velocidad de germinación (b), longitud de plúmula (c) y longitud de radícula (d).  $DL_{50}$ = Dosis letal media y  $RC_{50}$ = reducción media del crecimiento, de acuerdo a la línea de tendencia.

**Cuadro 1.** Modelos de regresión a los que se ajustaron el porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, longitud de plúmula y longitud de radícula de cuatro especies de pastos sometidas a diferentes dosis de irradiación gamma.

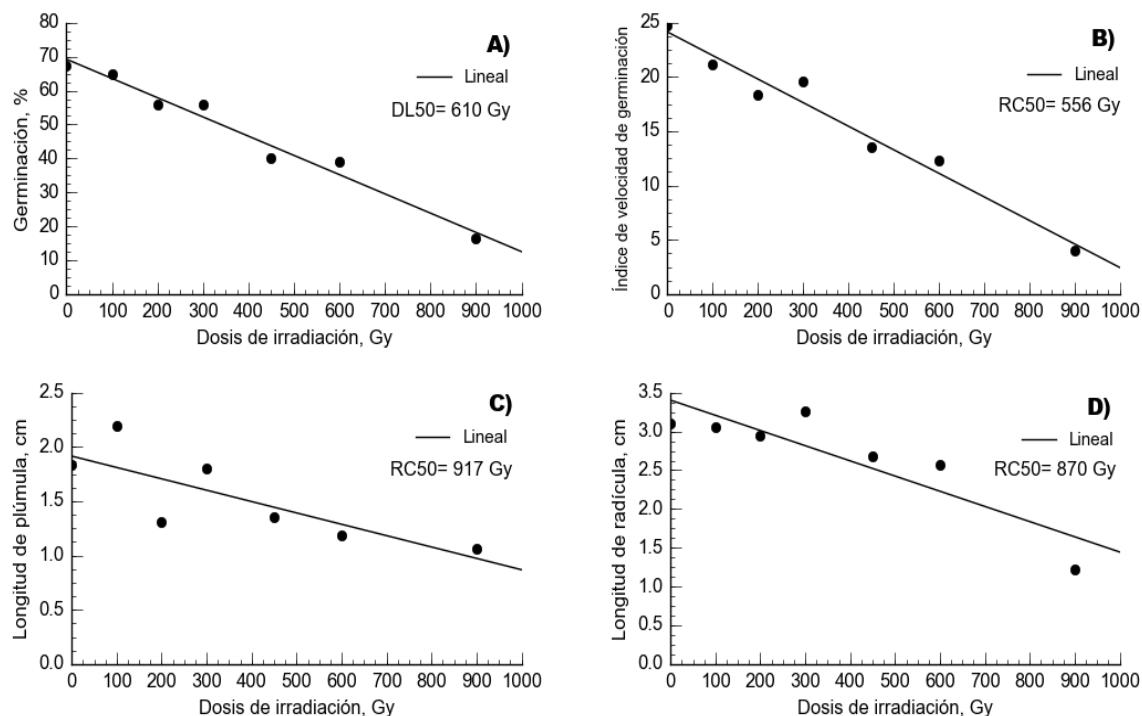
| Espezie/Variable                                 | Modelo             | Modelo de regresión             | Ecuación de regresión                            | Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) | P-valor |
|--|--------------------|---------------------------------|--|--|---------|
| <b>Llorón (<i>Eragrostis curvula</i>)</b>        |                    |                                 |  |  |         |
|  |                    |                                 |  |  |         |
| Porcentaje de germinación                        | Farazdaghi -Harris | $y = 1/(a + bx^c)$              | $y = 1/(0.00982 + 0.000000000017*(x^{3.28}))$    | 0.87                                   | 001     |
| Índice de velocidad de germinación               | Farazdaghi -Harris | $y = 1/(a + bx^c)$              | $y = 1/(0.01995 + 0.000000000000099*(x^{4.73}))$ | 0.90                                   | 001     |
| Longitud de plúmula                              | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0009x + 1.867$                           | 0.79                                   | 001     |
| Longitud de radícula                             | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0012x + 2.019$                           | 0.85                                   | 001     |
| <b>Buffel (<i>Pennisetum ciliare</i>)</b>        |                    |                                 |  |  |         |
|  |                    |                                 |  |  |         |
| Porcentaje de germinación                        | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0567x + 69.238$                          | 0.97                                   | 001     |
| Índice de velocidad de germinación               | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0217x + 24.142$                          | 0.96                                   | 001     |
| Longitud de plúmula                              | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.001x + 1.9159$                           | 0.62                                   | 001     |
| Longitud de radícula                             | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.002x + 3.4039$                           | 0.78                                   | 001     |
| <b>Banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>)</b> |                    |                                 |  |  |         |
|  |                    |                                 |  |  |         |
| Porcentaje de germinación                        | Farazdaghi -Harris | $y = 1/(a + bx^c)$              | $y = 1/(0.00954 + 0.000000616*(x^{2.01}))$       | 0.81                                   | 001     |
| Índice de velocidad de germinación               | Farazdaghi -Harris | $y = 1/(a + bx^c)$              | $y = 1/(0.0202 + 0.000000101*(x^{2.33}))$        | 0.90                                   | 001     |
| Longitud de plúmula                              | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0014x + 3.5005$                          | 0.84                                   | 001     |
| Longitud de radícula                             | Lineal             | $y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + E$ | $y = -0.0012x + 3.0978$                          | 0.90                                   | 001     |
| <b>Navajita (<i>Bouteloua gracilis</i>)</b>      |                    |                                 |  |  |         |
|  |                    |                                 |  |  |         |

**Cuadro 2.** Parámetros de germinación de cuatro especies de pastos sometidas a diferentes dosis de irradiación gamma con Co<sup>60</sup>.

| Especie/dosis (Gy)                               | Variables                     |                                    |                          |                           |
|--|-------------------------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------|
|  | Porcentaje de germinación (%) | Índice de velocidad de germinación | Longitud de plúmula (cm) | Longitud de radícula (cm) |
| <b>Llorón (<i>Eragrostis curvula</i>)</b>        |                               |                                    |                          |                           |
| Testigo  | 98.0                          | 48.6                               | 2.0                      | 2.1                       |
| 100  | 98.0                          | 48.2                               | 1.8                      | 1.9                       |
| 200  | 95.5                          | 46.5                               | 1.6                      | 1.9                       |
| 300  | 99.0                          | 48.9                               | 1.6                      | 1.7                       |
| 450  | 36.0*                         | 9.9*                               | 1.3*                     | 1.3                       |
| 600  | 28.5*                         | 7.5*                               | 1.2*                     | 1.1*                      |
| 900  | 29.0*                         | 10.5*                              | 1.1*                     | 0.9*                      |
| Error estándar (±)                               | 1.89                          | 0.48                               | 0.14                     | 0.12                      |
| <b>Buffel (<i>Pennisetum ciliare</i>)</b>        |                               |                                    |                          |                           |
| Testigo  | 67.5                          | 24.8                               | 1.8                      | 3.1                       |
| 100  | 65.0                          | 21.1                               | 2.2                      | 3.1                       |
| 200  | 56.0                          | 18.4                               | 1.3                      | 2.9                       |
| 300  | 56.0                          | 19.6*                              | 1.8                      | 3.3                       |
| 450  | 40.0*                         | 13.5*                              | 1.4                      | 2.7                       |
| 600  | 39.0*                         | 12.4*                              | 1.2*                     | 2.6                       |
| 900  | 16.5*                         | 4.0*                               | 1.1*                     | 1.2*                      |
| Error estándar (±)                               | 3.16                          | 1.32                               | 0.12                     | 0.25                      |
| <b>Banderita (<i>Bouteloua curtipendula</i>)</b> |                               |                                    |                          |                           |
| Testigo  | 94.5                          | 33.6                               | 3.7                      | 3.2                       |
| 100  | 94.5                          | 32.6                               | 3.3                      | 3.1                       |
| 200  | 94.0                          | 33.7                               | 3.3                      | 2.9                       |
| 300  | 93.0                          | 31.3                               | 3.1                      | 2.5                       |
| 450  | 18.5*                         | 5.4*                               | 2.9                      | 2.4                       |
| 600  | 16.0*                         | 3.9*                               | 2.3*                     | 2.4                       |
| 900  | 16.5*                         | 3.8*                               | 2.5*                     | 2.1*                      |
| Error estándar (±)                               | 1.91                          | 1.24                               | 0.24                     | 0.21                      |
| <b>Navajita (<i>Bouteloua gracilis</i>)</b>      |                               |                                    |                          |                           |
| Testigo  | 67.5                          | 25.2                               | 3.0                      | 2.5                       |
| 100  | 90.5*                         | 37.4*                              | 3.1                      | 2.3                       |
| 200  | 83.5*                         | 34.4*                              | 3.9*                     | 2.5                       |
| 300  | 89.5*                         | 35.8*                              | 2.9                      | 2.0                       |
| 450  | 6.0*                          | 0.3*                               | 0.7*                     | 0.5*                      |
| 600  | 1.0*                          | 0.1*                               | 0*                       | 0*                        |
| 900  | 0*                            | 0*                                 | 0*                       | 0*                        |
| Error estándar (±)                               | 0.95                          | 0.40                               | 0.16                     | 0.11                      |

\*Diferencias significativas (Dunnett, P&lt;0.05) respecto al tratamiento testigo (0 Gy)

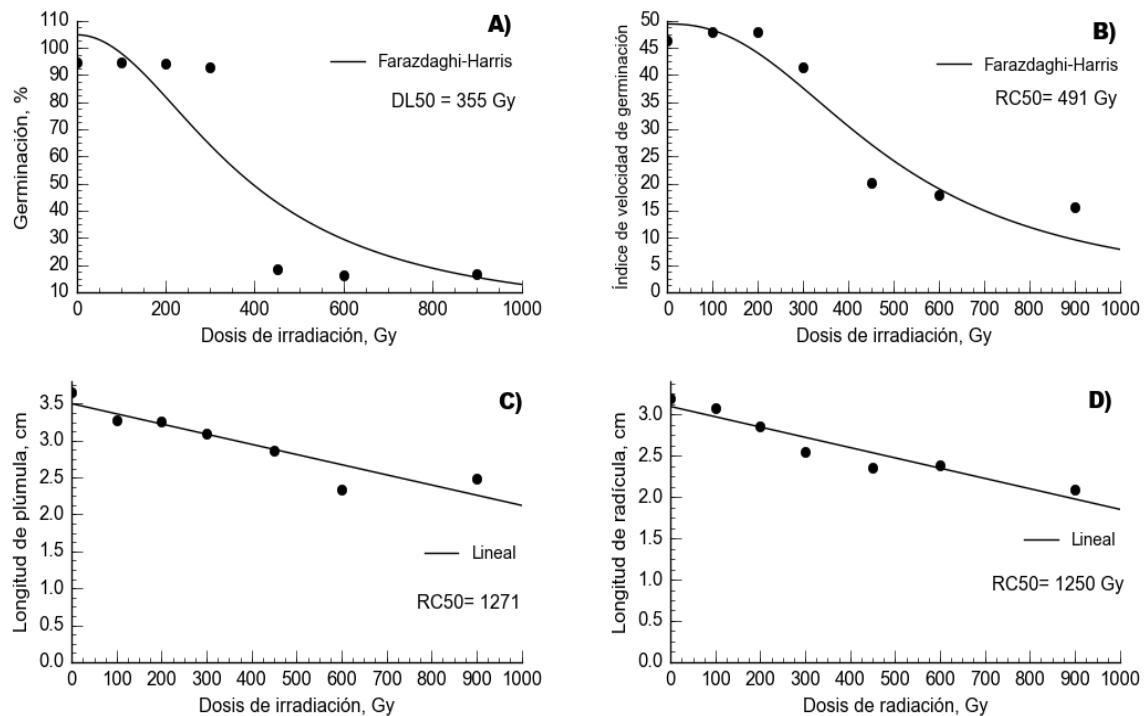
El comportamiento de todas las variables evaluadas en pasto buffel se ajustó a una tendencia lineal ( $P<0.0001$ ; Figura 2). Para estas variables, los coeficientes de determinación fluctuaron desde 0.62 hasta 0.97 (Cuadro 1). En esta especie, la única dosis que presentó diferencias en todas las variables respecto a T-0 ( $P<0.05$ ) fue la de 900 Gy (Cuadro 2). No obstante, la  $DL_{50}$  se encontró a 610 Gy y la  $RC_{50}$  a 556 Gy para el IVG, 917 Gy para LP y 870 Gy para LR. De acuerdo con lo anterior, la media ponderada de las dosis medias se calculó a los 686 Gy.



**Figura 2.** Irradiación con  $Co^{60}$  en semilla de pasto buffel (*Pennisetum ciliare*) y su efecto sobre el porcentaje de germinación (a), índice de velocidad de germinación (b), longitud de plúmula (c) y longitud de radícula (d).  $DL_{50}$ = Dosis letal media y  $RC_{50}$ = reducción media del crecimiento, de acuerdo a la línea de tendencia.

Al igual que en pasto llorón, el comportamiento del porcentaje de germinación y el índice de velocidad de germinación se ajustaron al modelo de Farazdaghi-Harris ( $P<0.0001$ ), en pasto banderita (Cuadro 1). Así mismo, la germinación disminuyó de 93 a 18.5% cuando la dosis de irradiación se incrementó de 300 a 450 Gy (Figura 3). En esta especie la única dosis que mostró diferencias respecto a T-0 ( $P<0.05$ ) en todas las variables fue la de 900 Gy (Cuadro 2). En pasto banderita la  $DL_{50}$  se presentó con 355 Gy. No obstante, para el IVG la  $RC_{50}$  se encontró en 491

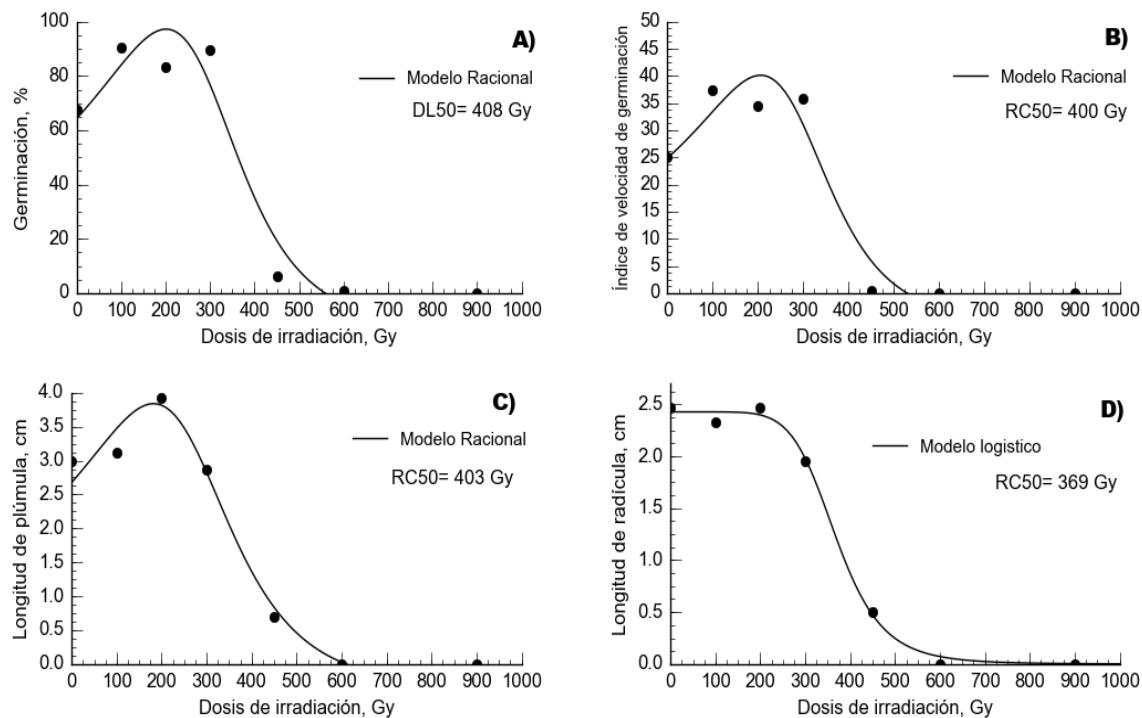
Gy, para LP en 1271 Gy y para LR en 1250 Gy. Por otro lado, el valor de la media ponderada fue de 647 Gy.



**Figura 3.** Irradiación con Co<sup>60</sup> en semilla de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) y su efecto sobre el porcentaje de germinación (a), índice de velocidad de germinación (b), longitud de plúmula (c) y longitud de radícula (d).

DL<sub>50</sub>= Dosis letal media y RC<sub>50</sub>= reducción media del crecimiento, de acuerdo a la línea de tendencia.

En pasto navajita el comportamiento del %GE, IVG y LP se ajustó a un modelo de regresión racional ( $P<0.0001$ ), mientras que LR se ajustó a un modelo sigmoideal logístico ( $P<0.0001$ ) (Cuadro 1). En esta especie, el %GE y el IVG presentaron un incremento ( $P<0.05$ ) con las dosis de 100, 200 y 300 Gy, con relación al testigo (Figura 4). De igual manera, se presentó un incremento ( $P<0.05$ ) en LP con las dosis de 300 Gy (Cuadro 2). Sin embargo, en todas las variables los valores obtenidos con las dosis de 450, 600 y 900 Gy fueron menor ( $P<0.05$ ) a los del tratamiento testigo. De acuerdo con la ecuación de predicción, la DL<sub>50</sub> se presentó a los 408 Gy para pasto navajita. De manera similar, la RC<sub>50</sub> en el IVG se presentó a los 400 Gy, en LP a 403 Gy y en LR a 369 Gy. La media ponderada de estos valores fue de 400 Gy.



**Figura 4.** Irradiación con  $\text{Co}^{60}$  en semilla de pasto navajita (*Bouteloua gracilis*) y su efecto sobre el porcentaje de germinación (a), índice de velocidad de germinación (b), longitud de plúmula (c) y longitud de radícula (d).

## Discusión

La germinación del pasto llorón, buffel y banderita disminuyó conforme aumentó la dosis de irradiación. Esto concuerda con diversos autores quienes mencionan que la germinación de diferentes especies de plantas tiende a disminuir a medida que aumenta la dosis de irradiación. Anbarasan *et al.* (2013) encontraron una reducción 94% a 27% en la germinación de semilla de ajonjolí (*Sesamum indicum*) al incrementar la dosis de irradiación de 0 a 1000 Gy. De manera similar, Bharathi *et al.*, (2013) observaron que la germinación de ashwagandh (*Withania somnifera*) disminuyó 75% al ser irradiada a 500 Gy. Así mismo, en otra investigación en arroz (*Oryza sativa*) encontraron que la germinación disminuyó un 66% con 350 Gy como dosis de irradiación (Rajarajan *et al.*, 2016). Lo anterior, se debe a que dosis altas de irradiación inhiben las funciones vitales de las células; lo cual puede provocar la muerte del embrión en la semilla. Este fenómeno aumenta conforme se incrementa la dosis de irradiación y es la causa por la que la germinación disminuye (Olasupo *et al.*, 2016). En contraste, el pasto navajita mostró un incremento en germinación de alrededor del 20% con dosis de 100, 200 y 300 Gy. Este resultado concuerda con el porcentaje de viabilidad obtenido para esta especie. Este fenómeno es similar

con lo señalado por González y Nakayama (2015), quienes encontraron que bajas dosis de irradiación gamma pueden estimular hasta en un 23% la germinación de *Stevia rebaudian*. Lo anterior, probablemente se debe a que la exposición de la semilla a irradiación gamma, frecuentemente causa la destrucción de algunos compuestos relacionados con la germinación como el ácido ascórbico. Una de las funciones de esta fitohormona es detener la división celular para inducir el estado de latencia en las semillas (Shah *et al.*, 2008).

La DL<sub>50</sub> encontrada en pasto buffel fue similar a lo reportado por Ousmane *et al.* (2013). Estos investigadores encontraron en *Pennisetum glaucum* la DL<sub>50</sub> en germinación a los 669.3 Gy mediante irradiación gamma. No obstante, en otro estudio en *Pennisetum typhoides* Ambli y Mullainathan (2014) encontraron la DL<sub>50</sub> a los 200 Gy. En otros estudios realizados en gramíneas, Harding *et al.* (2012) al exponer 13 variedades de arroz a irradiación gamma, encontraron que la DL<sub>50</sub> varió de 345 y 423 Gy de acuerdo a la variedad. De manera similar, Ramchander *et al.* (2015) encontraron la DL<sub>50</sub> en dos variedades de arroz en 288 y 354 Gy; mientras que, en esta misma especie, Rajarajan *et al.* (2016) encontraron la DL<sub>50</sub> a 229 Gy. Por otro lado, en un estudio realizado en pasto sudan (*Sorghum sudanense*), Golubinova y Gecheff (2011) encontraron que la DL<sub>50</sub> varió entre 307 y 342 Gy de acuerdo a la variedad.

En general la DL<sub>50</sub> de las especies analizadas se presentó en altas dosis de irradiación. Lo anterior probablemente se debe a que es semilla ortodoxa con bajo contenido de humedad. En este sentido, la radiación ionizante puede provocar la ruptura de enlaces covalentes y descomposición de moléculas de agua. Esto hace que se formen radicales libres que pueden dañar los diferentes organelos de la célula. Adicionalmente, estos radicales pueden ocasionar daños en la molécula de ADN, lo que a su vez puede inducir inversiones, translocaciones y cambios en la morfología de los cromosomas. Por esta razón, cuando el material a irradiar posee bajo contenido de humedad para que haya un efecto por radiación, se deben considerar dosis altas (Alegre, 2001), lo cual concuerda con los resultados en este estudio.

El IVG del pasto llorón, buffel y banderita disminuyó conforme aumentó la dosis de irradiación. Resultados similares fueron encontrados por Aparna *et al.* (2013), quienes encontraron que la velocidad de germinación en cacahuate (*Arachis hypogaea*) disminuyó al incrementar la dosis de irradiación de 58.4 a 6.8 con dosis de 2300 Gy. Es probable que el retraso en la germinación de semillas irradiadas probablemente se deba a que dosis altas de irradiación, inhiben funciones vitales para la célula como la síntesis de proteínas y la actividad enzimática;

esto a su vez retrasa la división celular y por ende la germinación (Chandrashekhar, 2014; Olasupo *et al.*, 2016). Por otro lado, en pasto navajita la velocidad de germinación aumentó con las dosis de 100, 200 y 300 Gy. Este resultado concuerda con lo reportado por Maity *et al.* (2005), quienes encontraron incremento en la velocidad de germinación de semillas de arroz, al someterse a dosis bajas de irradiación. De manera similar, de la Fe *et al.* (2000) encontraron aumento en la velocidad de germinación de semillas de soya (*Glycine max*) en dosis de entre 240 y 280 Gy. Con relación a esto, Chandrashekhar (2014) encontró que dosis bajas de irradiación pueden estimular la actividad metabólica de las células, la división celular y la actividad enzimática. Lo anterior pudo haber sido la causa del aumento en la velocidad de germinación del pasto navajita con dosis bajas de irradiación. |

En general la longitud de plúmula y radícula de las especies analizadas disminuyó conforme aumentó la dosis de irradiación. De manera similar, Ambavane *et al.* (2014) encontraron este efecto en *Eleusine coracana*, donde encontraron la RC<sub>50</sub> a los 500 Gy para ambas variables. Por otro lado, Talebi y Talebi (2012) encontraron este mismo efecto en arroz. Respecto a esto, la disminución en longitud de plúmula y radícula al igual que el retraso en la velocidad de germinación, puede deberse a un retraso en la actividad metabólica y la división celular por causa de la irradiación (Chandrashekhar, 2014; Olasupo *et al.*, 2016). No obstante, la LP del pasto navajita mostró incremento en la dosis de 200 Gy, lo cual podría indicar que esta dosis de irradiación estimula los procesos metabólicos y la actividad proteica en esta especie (Chandrashekhar, 2014). Algo similar se presentó en un estudio de Minisi *et al.* (2013), quienes al someter semilla de la planta ornamental *Moluccella laevis* a dosis de irradiación gamma entre 0 y 175 Gy, encontraron aumento en la germinación con dosis de 25 a 75 Gy.

La DL<sub>50</sub> y las RC<sub>50</sub> variaron en gran medida en todas las especies evaluadas en este estudio. Ante esta situación, se optó por establecer una media ponderada.

## Conclusiones

La DL<sub>50</sub> y RC<sub>50</sub> fue determinada a diferentes dosis de irradiación en pasto llorón, buffel, banderita y navajita. Para programas futuros de mejoramiento genético por mutagénesis con irradiación gamma, se recomienda como dosis optima de irradiación alrededor de 574 Gy para pasto llorón, 686 Gy para buffel, 647 Gy en banderita y 400 Gy en el navajita.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Al Centro Experimental Rosario Izapa, Chiapas del INIFAP. Al complejo MOSCAMED de SENASICA, Metapa de Domínguez, Chiapas. A la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

## Referencias

- Akgüm, I., Tosun, M. (2004). Agricultural and cytological characteristics of M1 perennial rye (*Secale montanum* Guss.) as affected by the application of different doses of gamma rays. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7: 827-833.
- Alegre, B.N. (2001). Reacción celular ante la radiación. *Radiobiología*. 1: 9-11.
- Ambavane, A.R., Sawardekar, S.V., Sawantdesai, S.A., Gokhale, N.B. (2014). 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.
- Ambli, K., Mullainathan, L. (2014). Effect of gamma rays and ems on seed germination and seed characters in pearl millet (*Pennisetum typhoides*) (Burn.)Stapf. Var. CO (Cu)-9. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences* 4: 3345-3349.
- Anbarasan, K., Rajendran, R., Sivalingam, D., Anbazhagan, M., Chidambaram, A.A. (2013). Effect of gamma radiation on seed germination and seedling growth of Sesame (*Sesamum indicum* L) Var.TMV3. *International Journal of Research in Botany* 3: 27-29.
- Ángeles-Espino, A., Valencia-Botín, A.J., Virgen-Calleros, G., Ramírez-Serrano, C., Paredes-Gutiérrez L., Hurtado-De la Peña, S. (2013). Determinación de la dosis letal (DL<sub>50</sub>) con Co<sup>60</sup> en vitroplántulas de *Agave tequilana* var. Azul. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36: 381-386.
- Aparna, M., Chaturvedi, A., Sreedhar, M., Kumar, D.P., Venu-Babu, P., Singhal, R.K. (2013). Impact of gamma rays on the seed germination and seedling parameters of groundnut (*Arachis Hypogaea* L.). *Asian Journal of Experimental Biological Sciences* 4: 61-68.

- Bharathi, T., Gnanamurthy, S., Dhanavel, D., Murugan, S., Ariraman, M. (2013). Induced physical mutagenesis on seed germination, lethal dosage and morphological mutants of Ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal). International Journal of Advanced Research 1: 136-141.
- Chandrashekhar, K.R.A. (2014). Gamma sensitivity of forest plants of Western Ghats. Journal of Environmental Radioactivity. 132: 100-107.
- de la Fé, C., Romero, M., Ortiz, R., Ponce, M. (2000). Radiosensibilidad de semillas de soya a los rayos gamma  $^{60}\text{Co}$ . Cultivos Tropicales 21: 43-47.
- Dunnett, W.C. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. Journal of the American Statistical Association. 50: 1096-1121.
- Golubinova, I., Gecheff, K. (2011). M1 cytogenetic and physiological effects of gamma-rays in sudan grass (*Sorghum Sudanense* (Piper.) Stapf). Bulgarian Journal of Agricultural Sciences 17: 417-423.
- González, M.C., Nakayama, H.D. (2015). Radioestimulación de la germinación en *Stevia rebaudiana* cultivar KH-IAN VC-142 (Eireté), mediante el empleo de rayos gamma  $^{60}\text{CO}$ . Cultivos Tropicales 36: 117-119.
- Harding, S.S., Johnson, S.D., Taylor, D.R., Dixon, C.A., Turay, M.Y. (2012). Effect of gamma rays on seed germination, seedling height, survival percentage and tiller production in some rice varieties cultivated in Sierra Leone. American Journal of Experimental Agriculture 2: 247-255.
- Khalil, S.A., Zamir, R., Ahmad, N. (2014). Effect of different propagation techniques and gamma irradiation on major steviol glycoside's content in *Stevia rebaudiana*. The Journal of Animal & Plant Sciences 24: 1743-1751.
- Li, Z., S. Peng, Y. Chen and L. Zhang. (1995). The response characteristics of GafChromic dosimetry media to  $^{60}\text{Co}$  gamma rays. Radiation Physics and Chemistry 46: 147-151.

- Maguire, J.D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
- Maity, J.P., Mishra, D., Chakraborty, A., Saha, A., Santra, S.C. Chanda, S. (2005). Modulation of some quantitative and qualitative characteristics in rice (*Oryza sativa* L.) and mung (*Phaseolus mungo* L.) by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 74: 391-394.
- Melgoza-Castillo, A., Ortega-Ochoa, C., Morales-Niero, C.R., Jurado-Guerra, P., Velez-Sánchez-Verin, C., Royo-Márques, M.H., *et al.* (2007). Propagación de plantas nativas para la recuperación de áreas degradadas: opción para mejorar ecosistemas. *Tecnociencia* 3: 38-41.
- Minisi, F.A., El-mahrouk, M., Rida, M.F., Nasr, M.N. (2013). Effects of gamma radiation on germination, growth characteristics and morphological variations of *Moluccella laevis* L. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 13: 696-704.
- Morela, F., González, V., Castro, L. (2002). Efecto de la radiación Gamma sobre la diferenciación de plantas de caña de azúcar a partir de callos. *Agronomía Tropical* 52: 311-323.
- Moreno-Gómez, B., García, E., Rascón, Q.C., Aguado, G.S. (2012). Crecimiento y establecimiento de plántulas de *Bouteloua gracilis* (Kunth) Leg. ex Griffiths y *Eragrostis curvula* var. *conferta* Stapf bajo un régimen simulado de lluvia *Revista Fitotecnia Mexicana* 35: 187-7380.
- Olasupo, F.O., Ilori, C.O., Forster, B.P. 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.
- Ousmane, S.D., Elegba, W., Danso, K. (2013). Radio-sensitivity of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) and cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seeds germination and seedling growth. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 4: 665-671.

- Quero, C.A.R., Enríquez, Q.J.F., Miranda, J.L. (2007). Evaluación de especies forrajeras en América Tropical, Avances o Status Quo. *Interciencia*. 32: 566-571.
- Rajarajan, D., Saraswathi, R., Sassikumar, D. (2016). Determination of lethal dose and effect of gamma ray on germination percentage and seedling parameters in ADT (R) 47 rice. *International Journal of Advanced Biological Research* 6: 328-332.
- Ramchander, S., Ushakumari, R., Pillai, M.A. (2015). Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. *Indian Journal of Agricultural Research* 49: 24-31.
- Sáenz-Flores, E., Saucedo-Terán, R.A., Morales-Nieto, C.R., Jurado-guerra, P., C. Lara-Macías, R., Melgoza-Castillo, A., Ortega-Gutierrez, J.A. (2015). Producción y calidad de semilla de pastos forrajeros como respuesta a la fertilización en Aldama, Chihuahua. *Tecnociencia* 9: 111-119.
- Shah, T.M., Mirza, J.I., Haq, M.A., Atta, B.M. (2008). Radio sensitivity of various chickpea genotypes in M1 generation I-Laboratory studies. *Pakistan Journal of Botany* 40: 649–665.
- Songsri, P., Suriharn, B., Sanitchon, J., Srisawangwong, S., Kesmala, T. (2011). Effects of Gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). *Journal of Biological Sciences* 11: 268-274.
- Statistical Analysis System (SAS). Institute. SAS/STAT 9.1.3. (2006). User's guide. Cary, NC, USA. 1686 p.
- Talebi, A.B., Talebi, A.B. (2012). Radiosensitivity study for identifying the lethal dose in MR219 (*Oryza sativa* L. spp. *Indica* cv. MR219). *International Journal of Agricultural Science, Research and Technology* 2: 63-67.
- Thole, V., Peraldi, A., Worland, B., Nicholson, P., Doonan, J.H., Vain, P. (2011). T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany* 10: 1-10.