



"Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible"

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

Efecto de irradiación con rayos X como fuente de inducción de mutaciones en plantas *in vitro* de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *X. violaceum* L. Schott)

Autor

Br. Mario Isaac Rayo García

Asesores

MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez

MSc. Rosario del Socorro García Loáisiga

PhD. Guillermo del Carmen Reyes Castro

Managua, Nicaragua

Marzo, 2021



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de tesis

Efecto de irradiación con rayos X como fuente de inducción de mutaciones en plantas *in vitro* de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *X. violaceum* L. Schott)

Autor

Br. Mario Isaac Rayo García

Asesores

MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez

MSc. Rosario Del Socorro García Loáisiga

PhD. Guillermo Del Carmen Reyes Castro

Presentado a la consideración del honorable tribunal
examinador como requisito final para optar al grado
de Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Marzo, 2021

Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable Tribunal Examinador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Tribunal Examinador

Presidente (Grado académico y
nombre)

Secretario (Grado académico y
nombre)

Vocal (Grado académico y nombre)

Lugar y Fecha: _____

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1. Cultivo de quequisque	4
3.2. Importancia del cultivo de quequisque	4
3.3. Características del quequisque Blanco y Lila	4
3.3.1. Quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	4
3.3.2. Quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i> L. Schott)	4
3.4. Producción de quequisque en Nicaragua	5
3.5. Enfermedad mal seco en quequisque	5
3.6. Mutación	5
3.7. Mejora genética mutacional	5
3.8. Radiación	6
3.9. Rayos X	6
3.10. Prueba de radiosensibilidad	7
3.11. Dosis de irradiación	7
3.12. Irradiación en masa	7
3.13. Material vegetal para irradiar	7
3.14. Plantas <i>in vitro</i> como explantes para irradiación	7
3.15. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS)	8
3.16. 6-bencilaminopurina (6-BAP)	8

IV. MATERIALES Y MÉTODOS	9
4.1. Ubicación del estudio	9
4.2. Diseño experimental	9
4.3. Material vegetativo	9
4.4. Preparación de plantas <i>in vitro</i> para la prueba de radiosensibilidad	9
4.5. Prueba de radiosensibilidad	9
4.6. Traslado a medio de cultivo MS	10
4.7. Variables evaluadas	10
4.8. Análisis de datos	11
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
5.1. Análisis de varianza de las variables morfológicas	12
5.2. Análisis de regresión lineal de las variables morfológicas de quequisque Blanco y quequisque Lila	15
5.3. Selección de dosis óptima de irradiación a partir de DR 30% en quequisque Blanco y quequisque Lila	18
VI. CONCLUSIONES	21
VII. RECOMENDACIONES	22
VIII. LITERATURA CITADA	23
IX. ANEXOS	28

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso.

A mis abnegados e incondicionales padres: *MSc. Jamilet García Laguna* e *Ing. Mario Francisco Rayo Huerta*.

A mi hermano menor: *Eli Nahúm Rayo García*.

A mi abuela materna: *Elsa Laguna Pichardo*.

A mi abuela paterna: *María de la Concepción Huerta López*.

A mi tía materna y segunda mamá: *Smirna García Laguna*.

A mí mismo, porque me lo merezco.

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me ha permitido culminar mis cinco años de carrera universitaria sin ningún tipo de problema.

A mis asesoras *MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez* y *MSc. Rosario del Socorro García Loáisiga*, por confiar en mí durante el proyecto de tesis y darme una enseñanza teórica-práctica de calidad.

Al asesor *PhD. Guillermo del Carmen Reyes Castro* por confiar en mí para ser su tesista y formar parte del proyecto.

A *Florian Goessnitzer* por haber apoyado en la toma de datos en el laboratorio de biotecnología y mejoramiento genético de Seibersdorf, Austria.

A los profesores *MSc. Álvaro Benavides González* y *MSc. Juan Carlos Morán Centeno* por su apoyo durante el transcurso de mi carrera.

A la AIEA por haber financiado el proyecto "Ampliación de la variabilidad genética de cultivos de propagación vegetativa empleando técnicas nucleares" que hizo posible la elaboración de ésta tesis.

A todas las personas dentro y fuera de la UNA que me ayudaron a seguir adelante.

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1	Dosis de irradiación con rayos X (Gy) aplicadas en la prueba de radiosensibilidad a plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco y Lila.	10
2	VARIABLES evaluadas a los 30 después de la irradiación en plantas <i>in vitro</i> de quequisque Lila y Blanco irradiadas con rayos X	10
3	Análisis de varianza de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces (cm) evaluados a los 30 días después de la irradiación en plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco irradiadas con rayos X	12
4	Análisis de varianza de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces (cm) evaluados a los 30 después de la irradiación en plantas <i>in vitro</i> de quequisque Lila irradiadas con rayos X	13
5	Análisis de varianza por genotipo, dosis e interacción tratamiento, especie en las variables altura de planta, peso de planta, número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces evaluadas a los 30 después de la irradiación	14

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Efecto de las dosis de irradiación con rayos X sobre la morfología de plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco a los 30 días después de la irradiación.	13
2	Efecto de las dosis de irradiación con rayos X sobre la morfología de plantas <i>in vitro</i> de quequisque Lila a los 30 días después de la irradiación.	14
3	Análisis de regresión lineal de las dosis de irradiación (Gy) y su efecto sobre las variables de altura de planta, peso de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces en las plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco irradiado con rayos X a los 30 días después de la irradiación.	16
4	Análisis de regresión lineal de las dosis de irradiación (Gy) y su efecto sobre las variables de peso de planta, altura de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces en las plantas <i>in vitro</i> de quequisque Lila irradiado con rayos X a los 30 días después de la irradiación.	17
5	Análisis de regresión y Dosis de reducción del 30% de las variables peso de la planta (g) y número de brotes en plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco irradiado con rayos X.	18
6	Análisis de regresión y Dosis de reducción del 30% de las variables peso de la planta (g) y número de brotes en plantas <i>in vitro</i> de quequisque Lila irradiado con rayos X	19

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1	Proceso de preparación de explantes de quequisque, irradiación con rayos X y evaluaciones realizadas.	28
2	Irradiador de rayos X autoprotegido modelo RS-2400 utilizado para la irradiación en masas de plantas <i>in vitro</i> de quequisque Blanco y quequisque Lila.	28
3	Promedios y categorías estadísticas según Tukey (0.05) por especie las variables de altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces de plantas <i>in vitro</i> irradiadas a los 30 días después de la inducción.	29
4	Promedios y categorías estadísticas según Tukey (0.05) por dosis de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces de plantas <i>in vitro</i> irradiadas a los 30 días después de la inducción.	29

RESUMEN

El quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* (L.) Schott), son originario del trópico y subtrópico de América y el Caribe. En Nicaragua se siembran dos cultivares de alto interés comercial; quequisque Blanco y Lila, ninguno tolerante a los efectos causados por la enfermedad mal seco (*Pythium myriotylum* Drechsler). Con el objetivo de evaluar el efecto de la irradiación con rayos X como fuente de inducción de mutantes, se seleccionaron plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco para ser trasladados de Nicaragua al laboratorio de biotecnología y mejoramiento genético en Seibersdorf, Austria para realizar una prueba de radiosensibilidad a rayos X. Se estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial (Dosis de irradiación y especies). Los tratamientos estudiados fueron las dosis de irradiación en quequisque Blanco: 0 (Testigo), 5, 10, 15, 20, 25 y 30 Gy y en quequisque Lila: 0 (Testigo), 5, 10, 20, 30 Gy. A los 30 días después de la inducción se evaluó altura de la planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de brotes, número y largo de raíces (cm) y dosis de reducción del 30% (DR 30%). En quequisque Blanco el Control fue superior estadísticamente en altura de planta, número y largo de raíces. En las variables peso de planta, número de hojas y número de brotes el Control y el dosis 5 Gy fueron superiores. En quequisque Lila El Control fue superior en peso de planta, número y largo de raíces; en altura de planta, número de hojas y brotes los tratamientos el Control y el dosis 5 Gy fueron superiores estadísticamente. En quequisque Blanco las dosis óptimas de irradiación seleccionadas fueron: 7, 9 y 11 G. En quequisque Lila las dosis óptimas de irradiación seleccionadas fueron: 5, 7 y 9 Gy.

Palabras clave: prueba de radiosensibilidad, mejora genética mutacional

ABSTRACT

Blanco cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) and Lila cocoyam (*Xanthosoma violaceum* (L.) Schott) are native to the tropics and subtropics of America and the Caribbean. In Nicaragua, two cultivars of high commercial interest are planted Blanco and Lila cocoyam, neither tolerant to the effects caused by root rot disease (*Pythium myriotylum* Drechsler). In order to evaluate the effect of X-ray irradiation as a source of induction of mutants, *in vitro* plants of Lila and Blanco cocoyam were selected to be transferred from Nicaragua to the plant breeding and genetics laboratory in Seibersdorf, Austria to carry on X-ray radiosensitivity test. A completely randomized design (CRD) with two factors (Irradiation dose and species) was established. The treatments studied were the irradiation doses in Blanco cocoyam: 0 (Control), 5, 10, 15, 20, 25 and 30 Gy and in Lila cocoyam: 0 (Control), 5, 10, 20, 30 Gy. At 30 days after induction, plant height (cm), plant weight (g), number of leaves, number of shoots, number and length of roots (cm) and reduction dose of 30 % (DR 30%) was evaluated. In Blanco cocoyam the control was statistically superior in plant height, number and length of roots. In the variables weight of plant, number of leaves and number of shoots, the control and the 5 Gy treatment were statistically higher. In Lila cocoyam, control was statistically higher in plant weight, number and length of roots; in plant height, number of leaves and shoots, the control and the 5 Gy treatments were statistically higher. In Blanco cocoyam the optimal doses of irradiation selected were: 7, 9 and 11 Gy. In Lila cocoyam the optimal doses of irradiation selected were: 5, 7 and 9 Gy.

Key words: radiosensitivity test, mutation breeding

I. INTRODUCCIÓN

El quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* (L.) Schott) son originarios del trópico y subtropico de América y el Caribe (Moreno y Suárez, 2008, p.1). “Puerto Rico posee la mayor variabilidad de cultivares de los países del Caribe y Centroamérica” (Reyes *et al.*, 2013, p.1).

García (2007) en un estudio realizado en Nicaragua reportó la existencia de 63 accesiones de al menos seis especies de *Xanthosoma*: (*X. atrovirens*, *violaceum*, *sagittifolium*, *robustum*, *mexicanum*, *wendlandii*), de las que solo dos cultivares se explotan comercialmente en Nicaragua (*X. violaceum*, y *X. sagittifolium*) (p.8). Acevedo y Navarro (2010) afirman que ninguna de las especies de valor comercial de *Xanthosoma* existentes en Nicaragua son resistentes al mal seco.

Wutoh *et al.*, (1994) aseguran que el mal seco es una enfermedad causada por el hongo oomycete *Pythium myriotylum* Drechsler (p. 462). Ésta es la enfermedad más devastadora en las plantaciones de quequisque (Tambong *et al.*, 1998, p.1). El mal seco provoca daños en el sistema radical de las plantas, amarillamiento de las hojas y reducción de los rendimientos (Fernández, 2019, p.3). La presencia de éste oomycete en las plantaciones de quequisque puede causar pérdidas de 90-100% de rendimiento. Rodríguez y Ramírez, (2012) y González (2019) reportaron el mal seco en Nicaragua.

Saborío, Umaña, Solano, Ureña *et al.*, (2004) indican que se han hecho intentos a partir del uso de técnicas culturales de mejora en quequisque para frenar la propagación de la enfermedad del mal seco, aún no ha sido posible obtener resultados eficientes (p. 143).

Goenaga y Hepperly (1989) alegan que el fracaso del uso de técnicas de mejoras convencionales se debe a que el quequisque raramente florece y cuando lo hace no produce semillas, ni polen viable para realizar cruzamientos de alta calidad (p. 254).

Para cultivos como el quequisque y la malanga que se reproducen de forma vegetativa y raras veces producen semillas, Novac y Brunner, (1992, p.26) mencionan que se puede implementar métodos de mejora como las mutaciones radioinducidas para generar plantas mutantes que pueden desembocar en nuevas variedades comerciales.

Micke (1981) describe la mutación como un medio para alterar genes y crear variabilidad genética que se puede utilizar para seleccionar los caracteres genéticos más adecuados. Novac y Brunner (1992) proponen las mutaciones inducidas como un método para crear resistencia a una enfermedad en particular o tolerancia a cambios del medio ambiente. (p.26). Según LaChance *et al.*, (1990) en Corea del Sur se ha utilizado la mejora mutacional para la obtención de variedades de arroz (*Oryza sativa* L.), Ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.) con resultados de maduración precoz, tallo corto y resistentes a las enfermedades y las plagas de insectos (p. 49).

En quequisque Danquah *et al.*, (2006) y Saborío, Umaña, Solano, Amador *et al.*, (2004) utilizaron las irradiaciones para generar variabilidad genética en plantas de *X. sagittifolium*, con el objetivo de obtener mutantes resistentes al mal seco, pero no han encontrado genotipos que sean productivos y/o resistentes a esta enfermedad.

En Nicaragua no se han generado estudios de inducción de mutaciones genéticas en quequisque, utilizando rayos X u otro método físico para el desarrollo de variedades resistentes a enfermedades o a factores abióticos.

En el presente estudio se evaluó el efecto de irradiación con rayos X en plantas *in vitro* de dos especies de quequisque, para determinar las dosis de irradiación como un paso preliminar en el mejoramiento del cultivo, parte del proyecto "Ampliación de la variabilidad genética de cultivos de propagación vegetativa empleando técnicas nucleares" que se ejecuta en la UNA.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de irradiación con rayos X como fuente de inducción de mutaciones en plantas *in vitro* de dos especies de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *X. violaceum* L. Schott).

2.2. Objetivo específico

- Determinar el efecto de la irradiación con rayos X sobre la morfología en dos especies de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *Xanthosoma violaceum*).
- Estimar la dosis de irradiación que reduce el 30 por ciento de crecimiento en dos especies de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *Xanthosoma violaceum*).
- Calcular la dosis de irradiación para inducir mutaciones en dos especies de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *Xanthosoma violaceum*).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. Cultivo de quequisque

El quequisque (*Xanthosoma* spp.), es un cultivo rico en vitaminas, proteínas y carbohidratos, posee mayor contenido de nutrientes que las demás raíces y tubérculos (León, 2000, p. 399). El quequisque, es originario de América tropical, probablemente de las islas del Caribe (Antillas) (Soto, 1983, p.1).

El quequisque es uno de los primeros cultivos en Nicaragua, dado que durante el siglo XVII era consumido extensivamente por los Misquitos y Mayagnas, grupos étnicos de la Costa Caribe (Wheelock, 1998).

3.2. Importancia del cultivo de quequisque

Reyes *et al.* (2013) afirma que la importancia del cultivo de quequisque se debe a:

El alto potencial de rendimiento, es afectado por pocas plagas y enfermedades, el poder de conservación en condiciones naturales, y menor tamaño del grano almidón en comparación con la yuca, el camote, el ñame y la papa, que lo hace recomendable para la dieta alimenticia por su alta digestibilidad, son las características que han contribuido al desarrollo e importancia mundial del cultivo (p. 3).

3.3. Características del quequisque Blanco y Lila

3.3.1. Quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium*)

Calzadilla *et al.* (2012) describe el quequisque Blanco de la siguiente manera:

Es una planta herbácea suculenta, sin tallo aéreo, sus hojas provienen directamente de un corno subterráneo primario, que corresponde al tallo de la planta y que es donde se forman los tallos secundarios que son los comestibles. Dicha planta posee un gran valor nutritivo, debido a las cantidades de carbohidratos, almidón, proteínas, vitaminas y minerales almacenados en sus raíces (p. 19).

3.3.2. Quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L. Schott)

Sánchez *et al.* (2008) describieron la planta de quequisque lila de la siguiente manera:

Es una planta terrestre con grandes raíces. Que presenta un tallo acaule, sus hojas son grandes, acorazonadas de 12 a 25 cm. de ancho.

La espata tiene limbo lanceolado y amarillento. Las flores machos están separadas de las hembras por órganos neutros y tienen anteras entrelazadas que se abren en la cúspide. Los ovarios tienen estilos cortos, coronados, con muchos óvulos (p.5).

3.4. Producción de quequisque en Nicaragua

“El área sembrada en 2019 fue de 1,334.94 ha⁻¹ y se obtuvo una producción de 14, 250 t, 69.6% menor al año anterior (46, 920 t), y representa un cumplimiento de 30% de la meta establecida (46, 920 t)” (Banco Central de Nicaragua, 2019, p. 26).

3.5. Enfermedad mal seco en quequisque

El mal seco es una enfermedad que afecta al quequisque y es causado por el hongo oomycete (*Pythium myriotylum* Drechsler), es comúnmente conocido como “root rot disease” o “Apolo disease” (Saborío, 2007, p. 171).

Alfaro (2012) describe los daños causados por el mal seco de la siguiente forma:

Es una enfermedad en las raíces las cuales muestran una pudrición color café y al extraer la planta del suelo, la corteza y la epidermis se desprenden y sólo permanecen adheridos a la planta, la medula radicular y los haces vasculares. Los síntomas más notorios son los de una clorosis que inicia en las hojas y continúan hacia los peciolo (p. 9).

3.6. Mutación

Pérez y Gradey (2008) describen que la mutación de la siguiente manera:

Es la modificación que se produce en los datos genéticos de un organismo viviente, dicha alteración, que puede resultar hereditaria, implica una modificación de sus características que conllevan a un cambio en el material hereditario (ADN) que no puede justificarse a través de la segregación o la recombinación (párr. 1).

3.7. Mejora genética mutacional

“La mejora por mutagénesis o mejora mutacional se designan todos los métodos de mejoramiento, en los cuales la variabilidad genotípica del material básico ha sido creada completamente, o en considerable medida, mediante la inducción de mutaciones” (López *et al.*, 2008, p, 122.).

“Las lesiones generadas por estos agentes mutagénicos pueden resultar en modificaciones de las características hereditarias o la inactivación del ADN” (López *et al.*, 2008, p. 122).

IAEA (2020) reporta alrededor de 3,364 variedades de mutantes en más de 220 especies de plantas que se han desarrollado oficialmente en el mundo (párr.5). Según Ahloowalia, (1998) las variedades obtenidas de mutaciones inducidas conservan todas sus características nutricionales originales, pero se mejora en una o dos características modificadas de interés (p. 37). FAO *et al.* (1999) La irradiación de cualquier alimento con una dosis total media hasta 10KGy, no presenta riesgos toxicológicos o nutricionales para la salud humana (p.1).

La inducción de mutagenesis es considerada un técnica de mejoramiento convencional, los alimentos derivados de variedades obtenidas por mutaciones es ampliamente aceptada y utilizada, los sistemas de productores orgánicos permiten que alimentos de variedades mutadas puedan ser vendidos como orgánicos (Institute of Medicine and National Research Council, 2004, p.45).

3.8.Radiación

“La radiación es la energía absorbida por ionización que induce cambios en las plantas a nivel molecular, es decir, las macromoléculas tales como ADN o enzimas o incluso algunas moléculas más pequeñas como ATP y co-enzimas” (Spencer *et al.*, 2018, p. 14).

3.9. Rayos X

Risk (2019) afirma que: “Los rayos X son un tipos de radiación electromagnética de alta energía (alta frecuencia). Son paquetes de energía que no tienen carga ni masa (peso). Estos paquetes de energía son conocidos como fotones (...)” (párr. 3).

Los rayos X son similares a la radiación gamma, con la diferencia principal de que se originan en la nube de electrones. Esto generalmente es causado por cambios de energía en un electrón, como pasar de un nivel de energía más alto a uno más bajo, causando que se libere el exceso de energía. Los rayos X también tienen una longitud de onda más larga y (generalmente) una energía más baja que la radiación gamma (American Cancer Society "ACS", 2019, párr. 2-3).

3.10. Prueba de radiosensibilidad

Spencer *et al.* (2018) Conceptualiza la prueba de radiosensibilidad como la cantidad de dosis que se administra a un material radiosensitivo de forma exponencial con el objetivo de generar mutaciones u efectos significativos (p. 25).

3.11. Dosis de irradiación

“Es la exposición crónica a la radiación que altera el desarrollo y la estructura genética de las plantas, aunque no afecta su capacidad reproductiva” (Infoagro, 2020, párr. 1).

Afza *et al.* (1992) Aseguran que:

No todos los genotipos poseen la misma radiosensibilidad a las radiaciones ionizantes y a los agentes mutagénicos en general e incluso se ha demostrado que diferentes tipos de explantes (semillas o porciones vegetativas como yemas o ápices) tienen diferentes respuestas a un mismo dosis mutagénico (p. 112).

3.12. Irradiación en masa

Rossi *et al.* (2009) define el uso de la irradiación en masa de la siguiente forma:

Es el proceso en el cual se introducen varias muestras de organismos vegetales o en un irradiador ya sea de rayos X, gamma u otro con el fin de desarrollar variaciones dentro de su ADN, buscando crear mutantes o incrementación de registros de germoplasma para su estudio y propagación (párr. 3).

3.13. Material vegetal para irradiar

Spencer *et al.* (2018) Describe el material vegetal destinado a la irradiación como las plantas, plántulas, semillas y partes vegetativas que pueden irradiarse fácilmente mediante la mayoría de las máquinas de rayos X o por fuentes gamma en un invernadero o habitaciones blindadas (p. 23).

3.14. Plantas *in vitro* como explantes para irradiación

Jain *et al.* (2010) Describen el uso de plantas *in vitro* para la propagación de plantas mutadas como una técnica adecuada de regenerar fácilmente plantas a partir del material vegetal tratado con mutágeno (p. 59).

3.15. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS)

El MS es un medio que contiene los macronutrientes y micronutrientes necesarios para el establecimiento de cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, se utiliza para la producción comercial de plantas y la multiplicación de cultivos en masa (Probiotec, 2017, párr. 1).

3.16. 6-bencilaminopurina (6-BAP)

García *et al.* (2015) afirman:

La 6-bencilaminopurina en su forma pura, es una hormona que regula el crecimiento de las plantas, generalmente se usa en el establecimiento de cultivos de tejidos *in vitro* como un aditivo del medio Murashige y Skoog para la producción de plantas de alta calidad (p. 59-62).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio

Las plantas *in vitro* de quequisque Blanco y Lila se establecieron y multiplicaron en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales (LCTV) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) en Nicaragua, ubicado en las coordenadas 12°08'58.3" latitud norte y 86°09'37.0" longitud oeste. Las vitroplantas de quequisque fueron enviadas a Austria para ser irradiadas con rayos X.

La preparación de los explantes y la prueba de radiosensibilidad de las plantas *in vitro* de quequisque se realizó en el laboratorio de biotecnología y mejoramiento genético en Seibersdorf, Austria en las coordenadas 47°57'47"3231. latitud norte y a las 16°30'40"3568. latitud este.

4.2. Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completo al azar (DCA) de carácter bifactorial (dosis de irradiación y especies). Los tratamientos estudiados fueron las dosis de irradiación aplicadas a las plantas. Se utilizaron 15 plantas por dosis para cada especie.

4.3. Material vegetativo

Se utilizaron plantas *in vitro* de quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium*) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L.), colectadas en el municipio de Nueva Guinea, Región Autónoma de la Costa Caribe Sur (RACCS).

4.4. Preparación de plantas *in vitro* para la prueba de radiosensibilidad

Las plantas *in vitro* con buen desarrollo y sin contaminación se redujeron a un tamaño aproximado a 1.5 cm y fueron colocadas sobre papel filtro estéril, en un plato petri descartable y se le agregaron 2 ml de H₂O destilada estéril para su posterior irradiación. En cada plato petri se colocaron 5 explantes. (anexo 1)

4.5. Prueba de radiosensibilidad

Se utilizó el equipo de rayos X autoprotectado RS-2400 para la irradiación de las plantas, ubicado en el laboratorio de biotecnología y mejoramiento genético en Seibersdorf, Austria. (anexo 2)

Para cada especie de quequisque se aplicaron las dosis descritas en el cuadro 1 (15 plantas por dosis).

Cuadro 1. Dosis de irradiación con rayos X (Gy) aplicadas en la prueba de radiosensibilidad a plantas *in vitro* de quequisque Blanco y Lila.

Dosis de irradiación con rayos X (Gy)	
quequisque Blanco	quequisque Lila
Control: 0	Control: 0
5	5
10	10
15	20
20	30
25	
30	

4.6. Traslado a medio de cultivo MS

Una vez irradiadas las plantas se procedió a colocarlas en frascos erlenmeyers con medio de cultivo líquido Murashige y Skoog (MS) + 2.5 mg l⁻¹ 6-BAP para su reposo y crecimiento durante un periodo de 30 días. Estas permanecieron suspendidas en un orbital shaker a 80 revoluciones por minuto. El cuarto de crecimiento estaba a una temperatura de 25°C. (anexo 1)

4.7. Variables evaluadas

Se evaluaron a los 30 días después de la irradiación (ddi) con el objetivo de medir los efectos de las dosis aplicadas en las plantas (cuadro 2).

Cuadro 2. Variables evaluadas a los 30 después de la irradiación en plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco irradiadas con rayos X.

Variable	Descripción
Altura de la planta (cm)	Se utilizó papel milimetrado estéril se midió la altura de la planta a partir de la base del pseudotallo hasta la parte de la inserción del pecíolo, tomando como referencia la hoja de mayor altura de la planta.
Peso de planta (g)	Se tomó el peso individual de cada planta utilizando una pesa analítica.
Número de hojas (unidad)	Se contó el número de hojas totales por planta.

Número de brotes (unidad)	Se contó el número de brotes totales por planta.
Número de raíces (unidad)	Se contó el número de raíces totales por planta.
Largo de raíces (cm)	Se midió el largo de cinco raíces por planta y se calculó el promedio del total de raíces por planta. Se utilizó papel milimetrado estéril.
Dosis de reducción de crecimiento en 30 % (DR 30%)	Se tomaron en cuenta las variables que mostraron los coeficientes de determinación (R^2) altos. En cada variable se calculó el porcentaje de crecimiento comparando cada dosis con el Control (dosis 0) y calculando la dosis que reducía el 30 % de crecimiento.

4.8. Análisis de datos

A las variables altura de planta, peso de planta, número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces evaluados a los 30 días después de la irradiación se les realizó un análisis de varianza y separación de media de Tukey al 5% utilizando el programa INFOSTAT versión 2018e.

Se utilizó el programa Excel para realizar el análisis de regresión lineal a las variables morfológicas y determinar la DR 30%. Se calculó la ecuación de regresión lineal y el coeficiente de determinación.

El modelo aditivo lineal utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = La k-ésima observación del i-ésimo dosis

μ = Estima a la media poblacional

α_i = Efecto del i-ésimo nivel de las dosis de irradiación

β_j = Efecto debido al j-ésimo de los genotipos

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de interacción entre dosis y genotipos

ϵ_{ijk} = Efecto aleatorio de variación

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis de varianza de las variables morfológicas

En quequisque Blanco todas las variables presentaron diferencias significativas; el Control fue superior estadísticamente en altura de planta (3.52 cm), peso de planta (1.51 g), número de brotes (2.69) y raíces (3.53), y largo de raíces (2.39 cm). El tratamiento 5 Gy fue superior estadísticamente en peso de planta, número de hojas y número de brotes. El tratamiento 10 Gy fue superior estadísticamente en número de brotes (cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de varianza de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces (cm) evaluados a los 30 días después de la irradiación en plantas *in vitro* de quequisque Blanco irradiadas con rayos X.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Peso planta (g)	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces	Largo raíces (cm)
Control	3.52 a	1.51 a	2.93 a	2.60 a	3.53 a	2.39 a
5 Gy	3.39 ab	1.45 a	3.07 a	2.13 a	2.53 ab	1.70 b
10 Gy	2.36 abc	0.75 b	2.27 ab	2.07 a	1.67 bc	0.83 c
15 Gy	2.45 abc	0.36 bc	1.00 c	0.10 b	2.10 abc	0.22 c
20 Gy	2.28 abc	0.38 bc	1.50 bc	0.00 b	1.50 bc	0.45 c
25 Gy	2.08 bc	0.36 bc	1.20 bc	0.00 b	0.90 cd	0.27 c
30 Gy	1.74 c	0.27 c	1.20 bc	0.00 b	0.00 d	0.00 d
P-Valor	0.0033	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
R ²	0.48	0.86	0.72	0.88	0.71	0.78
CV	28.03	31.16	30.01	46.35	42.73	48.78
IC	2.55±0.15	0.73±0.09	1.88±0.16	0.90±0.20	1.75±0.21	1.01±0.18

P-Valor= probabilidad, R²= Coeficiente de determinación, CV= Coeficiente de variación, IC= Intervalo de confianza ($\mu \pm \delta$)

En quequisque Blanco los tratamientos Control y 5 Gy tuvieron mayor altura de planta, mayor cantidad de hojas y raíces. A partir del dosis 10 Gy se observó deformaciones en las hojas (hojas alargadas y/o sin lóbulos), despigmentación en las plantas y una disminución en el número de brotes por planta. A partir del dosis 15 Gy no hubo formación de hojas nuevas o de brotes (figura 1).

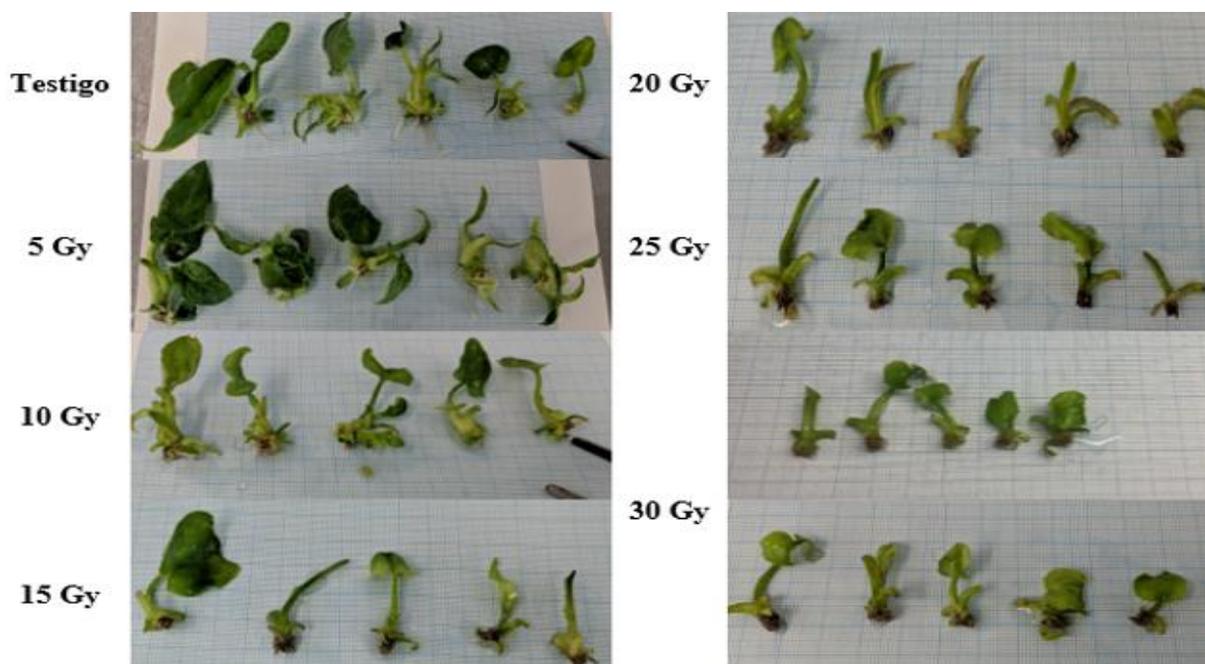


Figura 1. Efecto de las dosis de irradiación con rayos X sobre la morfología de plantas *in vitro* de quequisque Blanco a los 30 días después de la irradiación.

En quequisque Lila hubo diferencias significativas en todas variables. El dosis Control superior estadísticamente en peso de planta, número y largo de raíces; En altura de planta, número de hojas y brotes los tratamientos el Control y el dosis 5 Gy fueron superiores estadísticamente (cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces (cm) evaluados a los 30 después de la irradiación en plantas *in vitro* de quequisque Lila irradiadas con rayos X.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Peso planta (g)	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces	Largo raíces (cm)
Control	3.50 a	1.13 a	3.05 a	2.30 a	2.65 a	1.35 a
5 Gy	3.41 a	1.08 ab	3.33 a	1.60 a	1.93 ab	0.84 ab
10 Gy	2.42 ab	0.74 abc	1.20 b	1.40 ab	0.33 b	0.33 b
20 Gy	3.04 ab	0.48 bc	1.20 b	0.27 bc	0.53 ab	0.33 b
30 Gy	2.05 b	0.38 c	1.27 b	0.07 c	0.60 ab	0.22 b
P-Valor	0.0084	0.0042	<0.0001	0.0002	0.0149	0.0006
R ²	0.75	0.72	0.87	0.78	0.53	0.78
CV	21.95	41.06	23.62	55.53	91.17	50.14
IC	2.88±0.21	0.76±0.10	2.01±0.22	1.13±0.22	1.21±0.26	0.65±0.12

P-Valor= probabilidad, R²= Coeficiente de determinación, CV= Coeficiente de variación, IC= Intervalo de confianza ($\mu \pm \delta$)

En los tratamientos Control y 5 Gy se observó un comportamiento similar con misma altura de planta, número de hojas y formación de brotes. A partir del dosis 10 Gy se observó una disminución en el tamaño de las plantas, poca presencia de hojas y con deformaciones, sin crecimiento de hojas nuevas y con poca o nula producción de brotes (figura 2).



Figura 2. Efecto de las dosis de irradiación con rayos X sobre la morfología de plantas *in vitro* de quequisque Lila a los 30 días después de la irradiación.

El especie quequisque Blanco fue estadísticamente superior en las variables número y largo de raíces superando a quequisque Lila. Hubo efecto entre los tratamientos en todas las variables evaluadas. No hubo efecto en la interacción dosis*especie en ninguna de las variables evaluadas (cuadro 5, anexo 3 y 4).

Cuadro 5. Análisis de varianza por genotipo, dosis e interacción tratamiento, especie en las variables altura de planta, peso de planta, número de hojas, número de brotes, número de raíces y largo de raíces evaluadas a los 30 después de la irradiación.

	Altura de planta (cm)	Peso planta	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces	Largo raíces
Especie	0.3388	0.2593	0.2717	0.1698	0.0183	<0.0001
Dosis	<0.0003	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Dosis*especie	0.8157	0.2673	0.0957	0.5278	0.1848	0.2783
R ²	0.43	0.67	0.74	0.75	0.64	0.74
CV	29.75	41.57	27.67	51.11	59.84	48.01
IC	2.77±0.14	0.82±0.08	2.10±0.14	1.25±0.16	1.53±0.20	1.01±0.13

R²= Coeficiente de determinación, CV= Coeficiente de variación, IC= Intervalo de confianza ($\mu \pm \delta$)

El Control y la dosis 5 Gy mostraron valores superiores en la mayoría de las variables en estudio para ambas especies.

Blay *et al.* (2004) detectaron en plantas *in vitro* de *X. sagittifolium* irradiado que las dosis 0 Gy y 5 Gy se comportaron igual en las variables altura de planta, peso y número de hojas. Martínez y Briones (2020) En Malanga Blanca irradiado con rayos gamma encontraron que en altura de planta, el Control y los tratamientos 5 Gy y 10 Gy no mostraron diferencias estadísticas (p. 12). Bermúdez *et al.* (2016) y Achutegui y Schmidt (1985) han reportado que las dosis bajas de irradiación se comportan igual al Control al estimular el crecimiento de los tejidos irradiados, como se refleja en este estudio con la dosis 5 Gy y 10 Gy en las variables de altura de planta, número de hojas y número de brotes.

Madero *et al.* (2014) indica que no todos los genotipos poseen la misma radiosensibilidad a las radiaciones ionizantes y a los agentes mutagénicos en general e incluso se ha demostrado que diferentes tipos de explantes (semillas o porciones vegetativas como yemas o ápices) tienen diferentes respuestas a un mismo dosis mutagénico (p.2).

La radiosensibilidad varía con la especie y la variedad, con la condición fisiológica de la planta y órganos y con la manipulación del material irradiado antes y después del dosis mutagénico (Peña, 2006, p. 4).

Blay *et al.* (2004) encontraron que más allá de los 15 Gy los tratamientos afectan negativamente el crecimiento y la supervivencia de las plantas, al igual que las plantas irradiadas con dosis entre 20 Gy y 30 Gy mueren en seis semanas (p. 129).

5.2. Análisis de regresión lineal de las variables morfológicas de quequisque Blanco y quequisque Lila

La figura 3 presenta la ecuación de regresión lineal y R^2 ajustados para cada variable morfológica evaluada en quequisque Blanco. Todas las variables mostraron una correlación negativa entre dosis de irradiación Gy aplicadas.

El R^2 en altura de planta fue de 0.8741, en peso de planta 0.8125, número de hojas 0.745, número de raíces 0.9051, número de brotes 0.8001 y largo de raíces 0.8216. Para determinar la DR 30% se seleccionó la variable peso de planta porque indica el estado de crecimiento y supervivencia de las plantas irradiadas. La variable número de brotes fue seleccionada porque

determina la tasa de multiplicación del genotipo, necesaria para disgregar las quimeras existentes después de la irradiación.

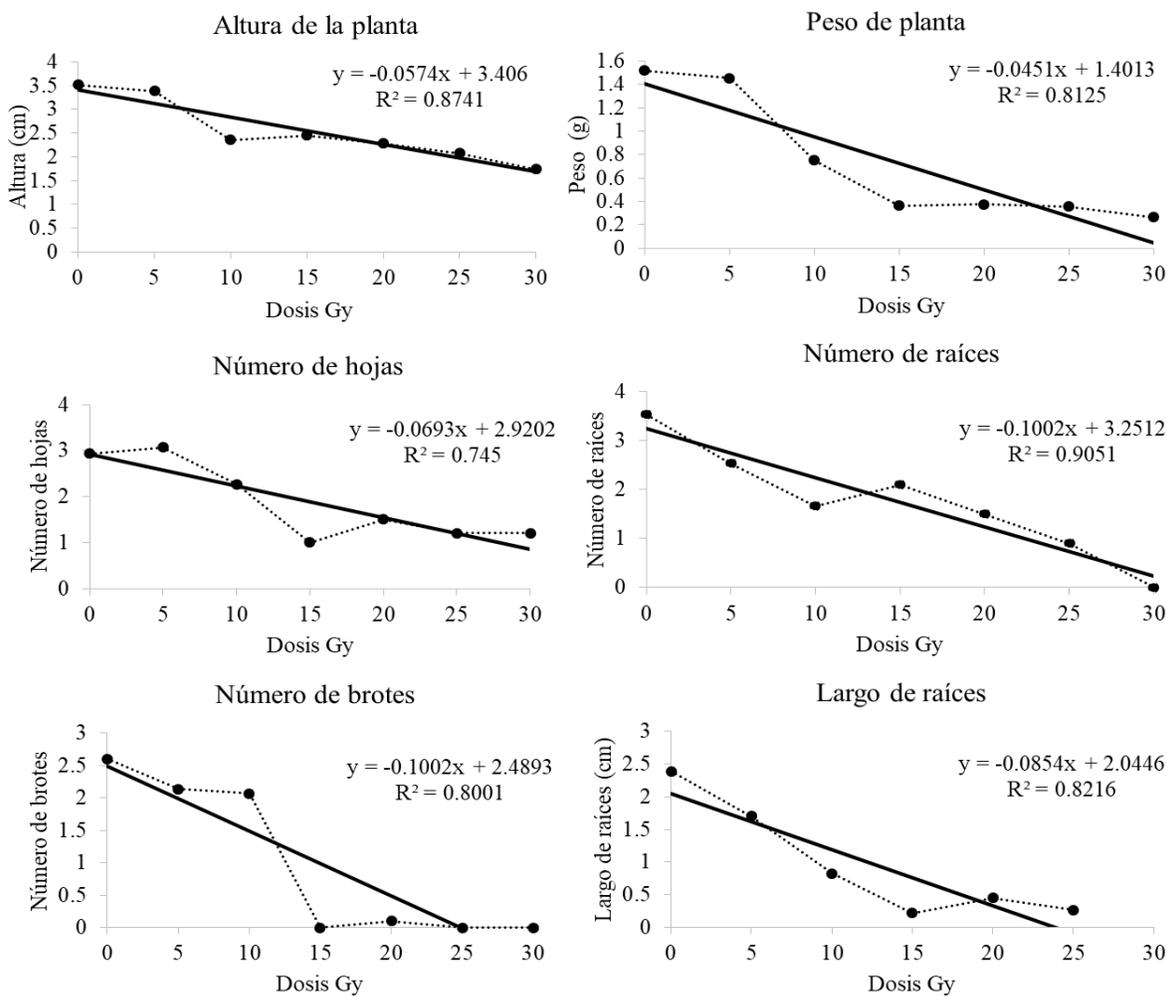


Figura 3. Análisis de regresión lineal de las dosis de irradiación (Gy) y su efecto sobre las variables de altura de planta, peso de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces en las plantas *in vitro* de quequisque Blanco irradiado con rayos X a los 30 días después de la irradiación.

La figura 4 muestra las ecuaciones de regresiones lineales y R^2 ajustados para cada variable morfológica evaluada en quequisque Lila. Todas las variables mostraron una correlación negativa entre dosis de irradiación aplicadas. El R^2 en peso de planta fue 0.9194, altura de planta 0.6192, número de hojas 0.5868, número de raíces 0.5621, número de brotes 0.939 y largo de raíces 0.6892. Para establecer la DR 30% se seleccionaron las variables peso de planta y número de brotes por las razones descritas anteriormente en quequisque Blanco (figura 4).

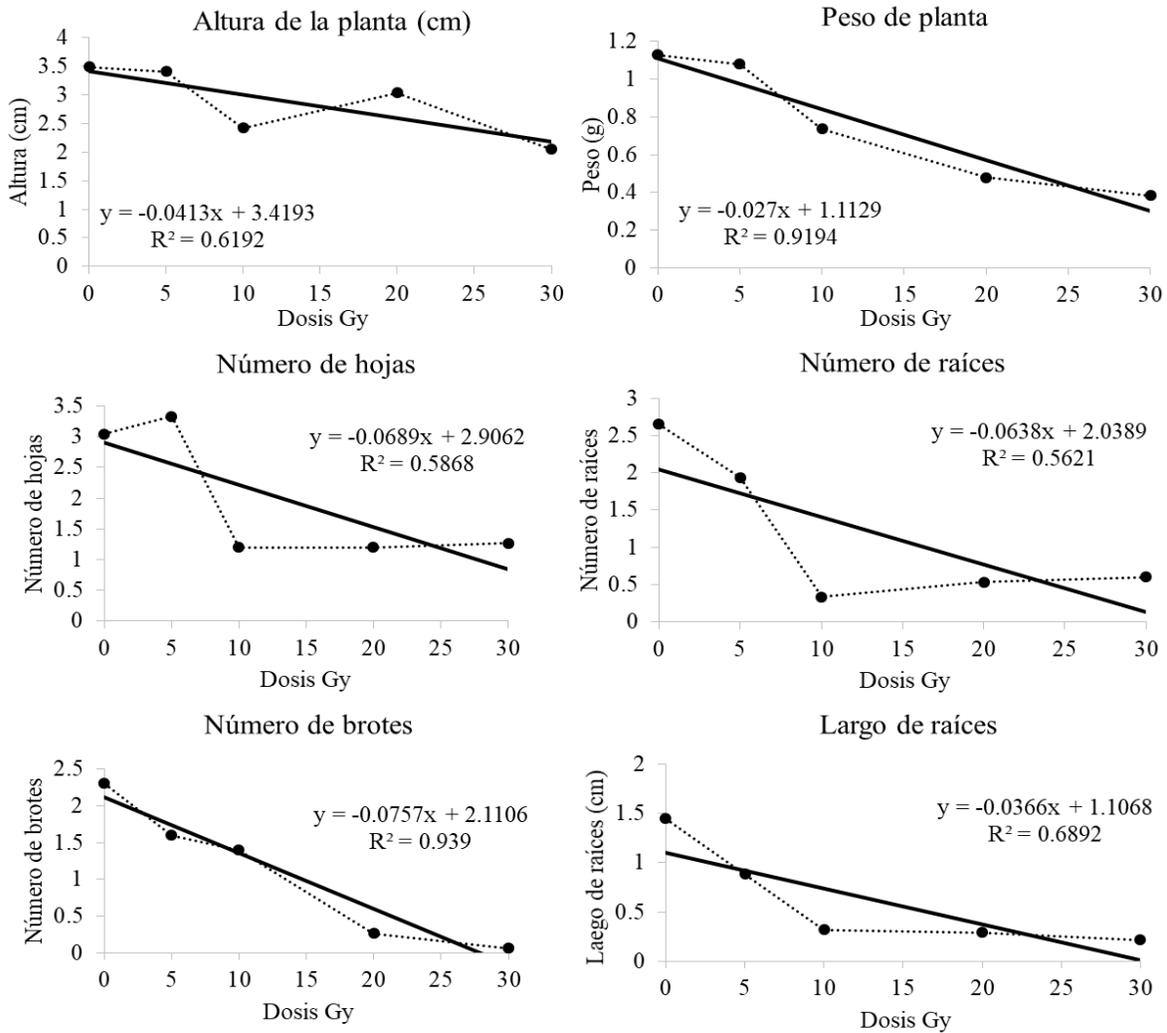


Figura 4. Análisis de regresión lineal de las dosis de irradiación (Gy) y su efecto sobre las variables de peso de planta, altura de planta, número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces en las plantas *in vitro* de quequisque Lila irradiado con rayos X a los 30 días después de la irradiación.

La disminución de altura de planta, peso de planta y número de hojas en quequisque Blanco y quequisque Lila irradiados con rayos X, concuerdan con los estudios realizados por Blay *et al.* (2004) donde observaron que los tratamientos de 10 y 15 Gy fueron significativamente diferentes del Control ocasionando reducción en altura y número de hojas (p. 129).

Ndzana *et al.* (2008) reportaron una reducción en el peso de planta, número de hojas y altura de planta a medida que las dosis superaban los 10 Gy de irradiación en *X. sagittifolium* irradiado con rayos gamma (p. 11). Valdez *et al.* (2004) observaron que la tendencia del crecimiento de los callos en caña se redujo a medida que las dosis se aproximaban a 30 Gy.

5.3. Selección de dosis óptima de irradiación a partir de DR 30% en quequisque Blanco y quequisque Lila

En quequisque Blanco la dosis de irradiación que reduce en un 30% el peso de planta es 7.9 Gy y el número de brotes es 10.8 Gy. Para calcular la dosis de irradiación se promedió la DR 30% de la variable número de plantas y número de brotes y se obtuvo una dosis de 9.35 Gy (figura 5).

Mukhtar *et al.* (2018) recomiendan utilizar tres dosis de irradiación las cuales debe ser \pm 20% de la dosis encontrada a través de las pruebas de radio-sensibilidad (p.121). En quequisque Blanco las dosis obtenidas fueron: 9 Gy, +20% 11.22 (11 Gy) y -20% 7.48 (7 Gy).

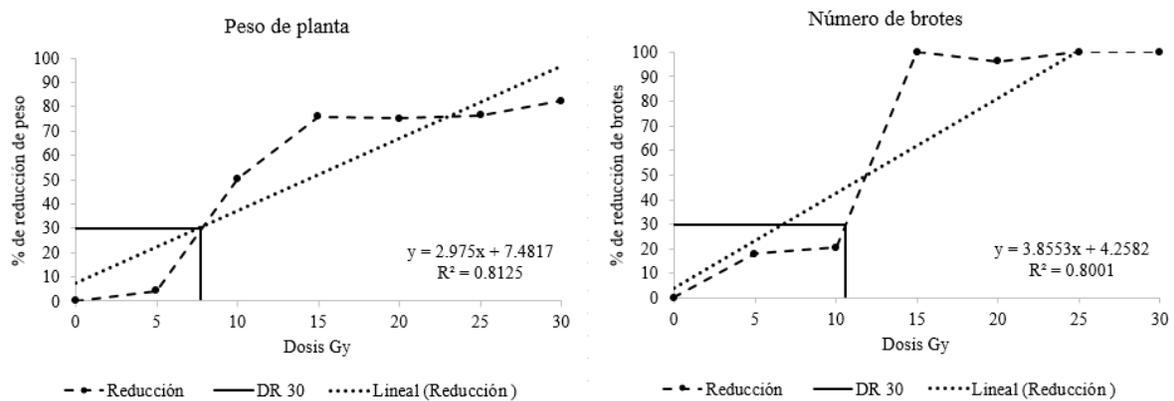


Figura 5. Análisis de regresión y Dosis de reducción del 30% de las variables peso de la planta (g) y número de brotes en plantas *in vitro* de quequisque Blanco irradiado con rayos X.

En quequisque Lila la dosis de irradiación que reduce en un 30% el peso de planta es 9 Gy y el número de brotes 5 Gy. Para calcular la dosis de irradiación se promedió la DR 30% de las variables número de plantas y número de brotes y se obtuvo una dosis de 7 Gy. En quequisque Lila las dosis obtenidas fueron: 7 Gy, +20% 8.4 (8 Gy) y -20% 5.6 (5 Gy). Para la dosis 8 Gy se decidió incrementar a 9 Gy para tener un mayor rango de irradiación.

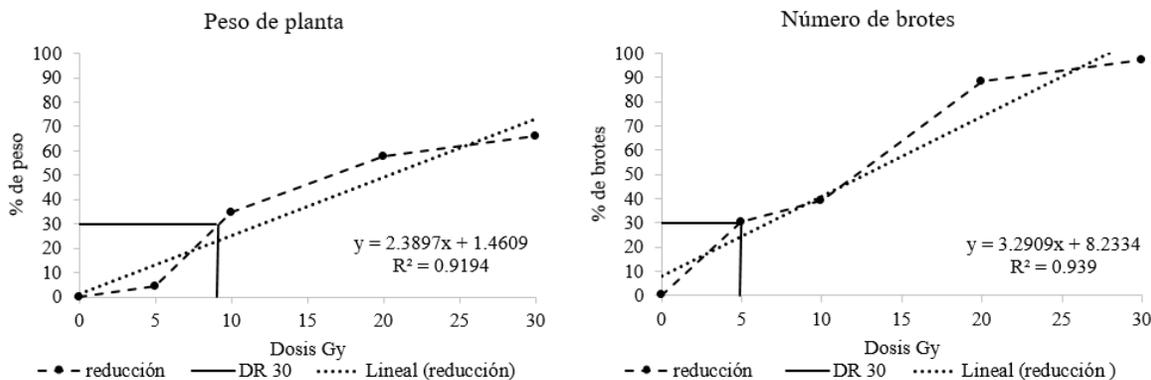


Figura 6. Análisis de regresión y Dosis de reducción del 30% de las variables peso de la planta (g) y número de brotes en plantas *in vitro* de quequisque Lila irradiado con rayos X.

Ndzana *et al.* (2008) comprobaron que las dosis de irradiación gamma entre 8 Gy y 10 Gy son las más propensas a inducir cambios estables que podrían usarse para aumentar la variabilidad dentro de las especies de quequisque (p. 12).

En el estudio realizado por Saborío, Umaña, Solano, Amador *et al.* (2004) en *Xanthosoma sagittifolium* irradiado con rayos gamma se determinó que las DR 30% óptima para la supervivencia de las plantas fue de 13.3 Gy (p.148). Martínez y Briones (2020) encontraron que la DR 50% en malanga Lila irradiado con rayos gamma fue 13.15 Gy y en malanga Blanca fue 24.5 Gy (p. 17-18).

Sarsu *et al.* (2018) indican que la prueba de radiosensibilidad se debe realizar para determinar la dosis que resulte en una reducción de altura de planta u otras variables de crecimiento, este valor es ampliamente utilizado para predecir la efectividad y la dosis eficiente para causar mutaciones, y puede variar entre el 30 y 50% de reducción en dependencia de la sensibilidad del material vegetal y de la decisión del mejorador (p. 162).

Novac y Brunner (1992) afirman que la inducción de mutaciones ha resultado ser un método eficaz para lograr variaciones dentro de un tipo de cultivo, ya que ofrece la posibilidad de inducir características deseadas que no se pueden hallar en la naturaleza o se han perdido durante el proceso evolutivo (p. 25). Según Robles, (1986) la inducción de mutaciones mediante la exposición de tejido somático a radiación ionizante puede provocar cambios en el material genético de las células y así obtener quimeras mutantes (p. 475).

Las mutaciones han sido descritas por Lundqvist *et al.* (2012) como cambios hereditarios que ocurren en el material genético de los organismos vivos que pueden ser inducidos o naturales; estos cambios se pueden reconocer por las variantes fenotípicas en los diferentes estados de crecimiento y abarcan todas las etapas de desarrollo de la planta, desde la germinación de la semilla, etapa vegetativa, generativa y almacenamiento de energía y pueden observarse en el color de la hoja, la estatura de la planta, esterilidad, entre otros (p. 48).

Las mutaciones genotípicas pueden inducir cambios en la secuencia del ADN, como mutaciones en el genoma, cromosoma o somáticos (Nielen *et al.*, 2018, p.84; Rodríguez *et al.*, 1981).

Ndzana *et al.* (2008) observaron cambios considerables en plántulas derivadas de brotes irradiados de quequisque Blanco y quequisque Lila, la mayoría en las hojas y tamaño de las plantas, observaron que quequisque Lila es más sensible a la irradiación que quequisque Blanco, exhibiendo una mayor sensibilidad a las dosis Gy aplicadas (p.12), en este estudio las dosis de irradiación calculadas para ambas especies fueron diferentes, en quequisque Lila las dosis de irradiación calculadas fueron inferiores a las de quequisque Blanco.

Las dosis calculadas serán utilizadas para la irradiación en masa de ambas especies para incrementar la variabilidad genética y evaluar la existencia de mutantes resistentes al mal seco.

VI. CONCLUSIONES

- Hubo efecto entre la dosis en el cultivar de quequisque Blanco en las variables peso de planta, número de hojas y número de brotes. En quequisque Lila las variables altura de planta, número de hojas y número de brotes presentaron diferencias significativas.
- La dosis de irradiación con rayos X que reduce el 30% de crecimiento en quequisque Blanco fue de 9 Gy. La dosis de irradiación que reduce el 30% de crecimiento en quequisque Lila fue de 7 Gy.
- Las dosis de rayos X seleccionadas para inducir mutaciones en vitroplantas de quequisque Blanco fueron: 7, 9 y 11 Gy. Las dosis 5, 7 y 9 Gy de irradiación con rayos X fueron seleccionadas para inducir mutaciones en vitroplantas de quequisque Lila.

VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el comportamiento de las plantas en condiciones de invernadero y campo para determinar su tolerancia a factores bióticos y abióticos características fisiológicas y productivas.
- Dar seguimiento a los cultivares de quequisque Blanco y quequisque Lila tratados con rayos X y determinar los niveles de ploidía de cada dosis a través de citometría de flujo, conteo de cromosomas para determinar si se obtuvieron nuevas variantes genéticas.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acevedo, A., y Navarro, E. (2010). Efecto del mal seco (*Pythium myriotylum* Drechsler) en campo y sombreadero sobre la morfología de 15 accesiones de quequisque (*Xanthosoma* spp), desarrollo de síntomas y detección microbiológica. [Tesis de pregrado no publicada]. Universidad Nacional Agraria.
- Achutegui, A., y Schmidt, J. (1985). Radiation sensitivity of in vitro culture of *Ullucus Tuberosus* and *Oxalis Tuberosa*. En Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement (pp. 161-166).
- Ahloowalia, B. (1998). Técnicas radiológicas aplicadas en la fitogenética y fototecnia multiplicando los beneficios. (p. 37) [Boletín de la OIEA].
- Alfaro, B. (2012). Detección de *Pythium myriotylum* var. *Aracearum* (Drechsler), causante del Mal Seco del tiquisque, en suelos de la Zona Norte de Costa Rica [Tesis de pregrado no publicada, Universidad de Costa Rica]. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/2480/1/34152.pdf>
- American Cancer Society (ACS). (2019). What are x-rays and gamma rays?. ASC.com. [https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/radiation-exposure/x-rays-gamma-rays/what-are-xrays-and-gamma-rays.html#:~:text=X%2Drays%20and%20gamma%20rays%20are%20created%20in%20power%20plants,\(high%20frequency\)%20electromagnetic%20radiation.](https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/radiation-exposure/x-rays-gamma-rays/what-are-xrays-and-gamma-rays.html#:~:text=X%2Drays%20and%20gamma%20rays%20are%20created%20in%20power%20plants,(high%20frequency)%20electromagnetic%20radiation.)
- Azfa, R., Brunner, H., y Hu, X. (1992). Mutation induction and related techniques for cassava breeding. Proceeding CBN First international Scientific Meeting of the Cassava Bio. Network Colombia. P.122.
- Banco Central de Nicaragua. (2019). Raíces y Tubérculos. En El Plan de Producción, Consumo y Comercio 2019-2020. https://www.lavozdelsandinismo.com/wp-estaticos/2019/05/PPCC-2019-2020_100519.pdf
- Bermúdez, I., Rodríguez, M., Reyes, M., Gómez, R., Chong, B., y Rivero, L. (2016). Mutagénesis in vitro en suspensiones celulares embriogénicas de banano cv. Grande naine (*Musa* AAA). En Biotecnología Vegetal (2.^a ed., Vol. 16, pp. 103-111).
- Blay, E., Offei, S., y Danquah, E. (2004). Improvement of cocoyam (*xanthosoma sagittifolium*) using gamma irradiation and tissue culture. En Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques (OIEA-FAO). https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1426_web.pdf
- Calzadilla, M., Vilorio, H., y Méndez, J. (2012). Densidad de siembra para la producción de semillas de ocumo blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) en la Estación Experimental Hortícola San Agustín de la localidad La Guanota del municipio

Caripe, estado Monagas, Venezuela. Acta Universitaria, 22.
<https://www.redalyc.org/pdf/416/41623193003.pdf>

- Danquah, A., Offei, S., Blay, E., Asare, E., y Danquah, E. (2006). Caracterización de una población mutante de Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott). Revista Internacional de Botánica, 2, 128-132. <https://doi.org/10.3923 / ijb.2006.128.132>
- FAO, OIEA, y OMS. (1999). Irradiación en dosis altas: Salubridad de los alimentos irradiados con dosis mayores a 10 KGy. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42325/WHO_TRS_890_\(part1\)_spa.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42325/WHO_TRS_890_(part1)_spa.pdf?sequence=1)
- Fernández, C. (2019). Efecto de la patogenicidad de *Pythium myriotylum* var. *Aracearum* sobre diferentes acciones de tiquisque (*Xanthosoma* spp.) [Tesis de pregrado no publicada]. Universidad de Costa Rica.
- García, L., Pérez, M., y Torres, D. (2015). Efecto de 6BAP en la multiplicación in vitro de *Spathiphyllum*. Biotecnología vegetal, 15(1), 59-62.
- García Vado, M. (2007). Colecta y establecimiento de banco de germoplasma en colección viva e In vitro del género *Xanthosoma* en Nicaragua [Tesis de pregrado no publicada]. Universidad Nacional Agraria.
- Goenaga, R., y Hepperly, P. (1989). Flowering induction, pollen and seed viability and artificial hybridization of tanners (*Xanthosoma* spp).
- González, R. (2019). Métodos de aislamiento y patogenicidad de agentes asociados al mal seco en quequisque (*Xanthosoma violaceum* L. Schott), en Nicaragua [Tesis de pregrado no publicada]. UNA.
- IAEA. (2020). Base de datos de variedades de mutantes. <http://mvd.iaea.org/>
- Institute of Medicine and National Research Council. (2004). Unintended effects from breeding. En *Safety of genetically engineered foods* (p. 45). The National Academies Press.
- Infoagro. (2020). Los efectos de la radiación solar en las plantas – Revista Infoagro México. <https://mexico.infoagro.com/los-efectos-de-la-radiacion-solar-en-las-plantas/>
- Jain, S., Ochatt, S., Kulkarni, V., y Predieri, S. (2010). Cultivo *in vitro* para el desarrollo de mutantes. En Acta Horticulturae (pp. 59-68).
- LaChance, L., Aslam, J., y Langer, C. (1990). Técnicas nucleares en la agricultura. BOLETÍN DEL OIEA, 3/1990. OIEA.
- León, J. (2000). Aráceas. En Botánica de los cultivos tropicales (Agronómica, pp. 399-402).

- López, J., Montano, N., Reinaldo, D., Rayas, A., Cabrera, M., Ventura, J. C., Sánchez, R., Mederos, V., Santos, A., Basail, M., y Roux, N. (2008). Development of a methodology for the propagation of Calcutta 4 and plantain genotypes from embryogenic cell suspensions and its interface with mutation breeding. 122.
- Lundqvist, U., Franckowiak, J., y Foster, B. (2012). Mutation categories. En *Plant mutation breeding and biotechnology* (pp. 47-56). IAEA.
- Madero, V., López, J., Ventura, J., Basail, M., Rayas, A., Santos, A., Beovides, Y., Rodríguez, D., Torres, M., y Bravo, Y. (2014). Determinación de la dosis letal media in vitro para la inducción de mutaciones en Malanga Colocasia. XIX congreso científico internacional, Villa Clara, Cuba. <https://docplayer.es/88794736-Determinacion-de-la-dosis-letal-media-in-vitro.html>
- Martínez, Y., y Briones, Y. (2020). Efecto de irradiación con rayos gamma como fuente de inducción de mutaciones en dos cultivares de malanga (*Colocasia esculenta* L. Schott) [Tesis de pregrado no publicada]. UNA.
- Micke, A. (1981). Mejoramiento de las plantas mediante mutaciones inducidas. OIEA.
- Moreno, D., y Suárez, A. (2008). Caracterización morfológica de veinte accesiones del banco de germoplasma del género xanthosoma en condiciones de campo de la UNA 2008. [Tesis de pregrado no publicada], Universidad Nacional Agraria. <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf30m843.pdf>
- Mukhtar, A., Spencer, L., y Thomas, W. (2018). Mutation breeding in seed propagated crops: Parental selection, mutant generation development, mutation detection, mutant evaluation, and factors influencing success. En *Manual on mutation breeding* (3.^a ed., pp. 119-153).
- Ndzana, X., Zok, S., y Sama, A. (2008). Preliminary Study on Radiation Sensitivity of In Vitro Cultures of Xanthosoma (Macabo) in Cameroon. En *Plant Mutation Reports* (Vol. 2).
- Nielen, S., Foster, B., y Badigannavar, A. (2018). Types of mutations. En *Manual on mutation breeding* (3.^a ed., pp. 83-101). International Atomic Energy Agency.
- Novac, F., y Brunner, H. (1992). Fitotecnia: Tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos. *Boletín de la OIEA* 4/1992. (pp. 25-33).
- Peña, L. (2006). Efecto de la radiación gamma sobre brotes de ciruelo europeo (*prunus domestica* L.) var d'ágen cultivados in vitro. [Tesis de pregrado no publicada]. Universidad de Chile.
- Pérez, H., y Gradey, R. (2008). Definición de mutación [Enciclopedia de versión electrónica]. Real Academia Española de la Lengua (RAE). <https://definicion.de/mutacion/>

- Probiotec. (2017). Medio de cultivo: Murashige and Skoog (MS) Basal Salt Medium. Plantmedia. <https://www.probiotek.com/productos/reactivos/1513/>
- Reyes, G., Corea, H., y Guatemala, T. (2013). Guía de manejo agronómico del quequisque en Nicaragua. ProPemse.
- Risk, J. (2019). X-rays? Xrayrisk.com. <http://www.xrayrisk.com/faq.php#q1>
- Robles, S. (1986). Genética Elemental y Fitomejoramiento Práctico (1.^a ed.). Limusa Wiley.
- Rodríguez, C., Pérez, J., y Fuch, J. (1981). *Genética y mejoramiento de las plantas*. Pueblo y educación.
- Rodríguez, M., y Ramírez, D. (2012). Diagnóstico de los agentes causantes del mal seco en el cultivo de quequisque (*xanthosoma* spp) en el municipio de Nueva Guinea, Nicaragua [Tesis de pregrado no publicada]. Universidad Nacional Agraria.
- Rossi, L., Watson, D., Miranda, A., Escandarani, S., y Troncoso, T. (2009). La radiación a la mesa. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000500003
- Saborío, F. (2007). Cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott).
- Saborío, F., Umaña, G., Solano, W, Amador, G., Valerin, S., Torres, R., y Valverde, R. (2004). Induction of genetic variation in *Xanthosoma* SPP. Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques.
- Saborío, F., Umaña, G., Solano, W., Ureña, J., Muñoz, W., Hidalgo, J., y Brenes, A. (2004). Mejoramiento genético del tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium* Schott) contra el Mal Seco. Memoria 2004. Talleres REDBIO en la comunidad de la Poma, Masaya.
- Sánchez, M., Ruíz, E., y Alvarado, D. (2008). Búsqueda, colecta y caracterización agromorfológica de cultivares de macal (*Xanthosoma violaceum*) procedentes del suroccidente de Guatemala [Tesis de pregrado no publicada].
- Sarsu, F., Penna, S., Kunter, B., y Ibrahim, R. (2018). Mutation breeding for vegetatively propagated crops. En *Manual on mutation breeding* (3.^a ed., pp. 157-174). IAEA.
- Soto, J. (1983). Tiquisque (*Xanthosoma* spp) (CATIE).
- Spencer, L., Jankuloski, L., Mukhtar, A., Matijevic, M., y Kodym, A. (2018). Physical Mutagenesis. En *Manual on mutation breeding* (3.^a ed.). IAEA.
- Tambong, J., Sapra, V., y Garton, S. (1998). In vitro induction of tetraploids in colchicine-treated cocoyam plantlets (pp. 191-197).

file:///C:/Users/Oficina/Downloads/Tambong1998_Article_InVitroInductionOfTetraaploidsI.pdf

Valdez, A., Orellana, P., Rodríguez, N., y Torres, D. (2004). Crecimiento, regeneración y radiosensibilidad de callos de caña de azúcar (*Saccharum* spp. Híbrido var. "SP 70-1284") tratados con radiación gamma fuente ⁶⁰Co. *Biotecnología vegetal*, 4(3), 165-169.

Wheelock, j. (1998). *La comida Nicaraguense*. Hispamer.

Wutoh, J., Tambong, J., Meboka, M., y Nzietchueng, S. (1994). Evaluación de campo de cocoyam (*Xantosoma sagittifolium* (l) schott) para la tolerancia a la enfermedad de la poder de la raíz causada por *pythium myriotylum*. En *Acta Horticulturae* 380 (pp. 462-466).

Anexo 3. Promedios y categorías estadísticas según Tukey (0.05) por especie las variables de altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces de plantas *in vitro* irradiadas a los 30 días después de la inducción.

Especie	Altura de planta (cm)	Peso planta	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces	Largo raíces
Blanco	2.66 a	0.87 a	2.19 a	1.38 a	1.85 a	0.73 a
Lila	2.88 a	0.76 a	2.01 a	1.13 a	1.21 b	0.61 b

Anexo 4. Promedios y categorías estadísticas según Tukey (0.05) por dosis de las variables altura de planta (cm), peso de planta (g), número de hojas, número de raíces, número de brotes y largo de raíces de plantas *in vitro* irradiadas a los 30 días después de la inducción.

Dosis	Altura de planta (cm)	Peso planta	Número de hojas	Número de brotes	Número de raíces	Largo raíces
Control	3.51 c	1.32 b	2.99 b	2.45 b	3.09 b	1.87 d
5	3.40 bc	1.27 b	3.20 b	1.87 b	2.23 b	1.27 cd
10	20.39 ab	0.74 a	1.73 a	1.73 b	1.00 a	0.58 bc
20	2.66 abc	0.43 a	1.35 a	0.18 a	1.02 a	0.39 b
30	1.89 a	0.33 a	1.23 a	0.03 a	0.30 b	0.00 a