

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**MUTAGÉNESIS CON RADIACIÓN GAMMA PARA
MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PASTO ROSADO [*Melinis
repens* (Willd.) Zizka]**

POR:

M. C. RAÚL CORRALES LERMA

**DISERTACIÓN PRESENTADA COMO REQUISITO PARA
OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN PHILOSOPHIA CON
ÁREA MAYOR EN RECURSOS NATURALES**



Mutagénesis con radiación gamma para mejoramiento genético del pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], disertación presentada por Raúl Corrales Lerma como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Filosofía, ha sido aceptada y aprobada por:

Ph. D. Carlos Ortega Ochoa
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

Ph. D. Felipe Rodríguez Almeida
Encargado del despacho de la Secretaría de Investigación y Posgrado

D. Ph. Agustín Corral Luna
Coordinador Académico

Dr. Carlos Raúl Morales Nieto
Presidente

15 de Diciembre de 2017

Fecha

Comité:

Dr. Carlos Raúl Morales Nieto
Dr. Carlos Hugo Avendaño Arrazate
Dr. Eduardo Santellano Estrada
Ph. D. Federico Villarreal Guerrero
Ph. D. Alicia Melgoza Castillo

© Derechos Reservados
AUTOR: RAÚL CORRALES LERMA
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA KM. 1,
CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO C.P.
31453
DICIEMBRE DEL 2017

AGRADECIMIENTOS

A Dios por sus bendiciones y la oportunidad de cursar un Doctorado.

A mi esposa, hija, padres y hermanos por su calidez y apoyo incondicional.

A cada uno de los integrantes de mi comité de grado por sus aportaciones.

Al Dr. Carlos Morales por su dedicación y entrega con sus alumnos.

Al Dr. Carlos Avendaño por su hospitalidad y colaboración en Chiapas.

Al M. C. Alan Álvarez por su amistad y colaboración en este proyecto.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología (FZyE).

A la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH).

Al Consejo Nacional Ciencia y Tecnología (CONACyT)

Al Centro Experimental Rosario Izapa, Chiapas del INIFAP.

Al complejo MOSCAMED de SENASICA, Metapa de Domínguez, Chiapas.

DEDICATORIA

A LOS PASTIZALES

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 19 de abril de 1975 en la ciudad de Parral, Chihuahua, México.

- | | |
|-----------|---|
| 1992-1995 | Estudios de Técnico en Administración de Empresas en el Centro Estudios Tecnológicos Industrial y de Servicio N° 86 |
| 2008-2012 | Estudios de licenciatura con la carrera de Ingeniero Zootecnista en Sistemas de Producción, egresado de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH. Titulado con mención honorífica |
| 2012-2014 | Estudios de Maestría en Ciencias con Área Mayor en Recursos Naturales y línea de investigación en Manejo de Pastizales. Titulado con mención honorífica |
| 2015-2017 | Estudiante de Doctorado Philosophia con Área Mayor en Recursos Naturales y línea de investigación en Mejoramiento Genético de Pastos |

RESUMEN GENERAL

MUTAGÉNESIS INDUCIDA CON RADIACIÓN GAMMA PARA MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PASTO ROSADO [*Melinis repens* (Willd.)

Ziska]

POR:

M. C. RAÚL CORRALES LERMA

Doctor en Philosophia de Recursos Naturales

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Carlos Raúl Morales Nieto

La inducción de variabilidad intraespecífica representa una alternativa para el mejoramiento genético en pastos. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar al pasto rosado en el estado de Chihuahua e inducir variabilidad a través de mutagénesis con radiación gamma para modificar su morfología y valor nutricional. La investigación consistió en tres estudios en condiciones de campo, invernadero y laboratorio. En el primer estudio, las poblaciones silvestres del pasto rosado en el estado de Chihuahua fueron caracterizadas morfológicamente. En el segundo estudio consistió en determinar la dosis óptima de radiación gamma en la semilla de pasto rosado. Por último, las semillas irradiadas fueron sembradas para evaluar la variabilidad en mutantes de primera generación (M1). Los datos se analizaron con el programa SAS a través de análisis multivariados y univariados. El pasto rosado no presentó variabilidad morfológica entre poblaciones del estado de Chihuahua. La dosis letal media

(DL₅₀) fue a los 250 Gy con radiación gamma de ⁶⁰CO. Las plantas desarrolladas a partir de semillas irradiadas presentaron características morfológicas y nutricionales diferentes a las poblaciones silvestres del estado de Chihuahua. Los resultados de estos estudios pueden contribuir para aumentar la probabilidad de aprovechamiento del pasto rosado mediante el desarrollo de nuevo material genético de interés agronómico.

GENERAL ABSTRACT

MUTAGENESIS INDUCED BY GAMMA RADIATION FOR THE GENETIC IMPROVEMENT OF NATAL GRASS [*Melinis repens* (Willd.) Zizka]

BY:

RAÚL CORRALES LERMA

Induction of intraspecific variability represents an alternative for breeding of grasses. The objective of this study was to characterize Natal grass and to induce variability through mutagenesis with gamma radiation, to modify its morphology and nutritional value. The investigation consisted of three studies conducted under field, greenhouse and laboratory conditions. In the first study, wild populations of natal grass in the state of Chihuahua were morphologically characterized. The second study consisted of determining the optimal dose of gamma radiation in the natal grass seed. Finally, the irradiated seeds were sown to evaluate the variability in first generation mutants (M1). The data was analyzed with the SAS program through multivariate and univariate analyzes. The natal grass did not show morphological variability among populations of the state of Chihuahua. The mean lethal dose (LD50) was at 250 Gy with ^{60}Co gamma radiation. The plants developed from irradiated seeds presented morphological and nutritional characteristics different from the wild populations of the state of Chihuahua. The results of these studies can contribute to increase the probability of utilization of the natal grass through the breeding of new genetic material of agronomic interest.

CONTENIDO

	Página
CURRICULUM VITAE.....	v
RESUMEN GENERAL.....	vi
GENERAL ABSTRACT.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE GRÁFICAS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Pasto Rosado.....	4
Descripción Taxonómica del Pasto Rosado.....	5
Mejoramiento Genético.....	5
Mutaciones y Modificación Genética.....	6
Mutagénesis en Gramíneas.....	8
Rayos Gamma.....	10
Cobalto 60 (CO ⁶⁰).....	11
Variables Ambientales.....	12
LITERATURA CITADA.....	13
ESTUDIO 1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y NUTRICIONAL DE PASTO ROSADO [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Ziska] EN EL ESTADO DE CHIHUAHUA.....	20
RESUMEN.....	22
ABSTRACT.....	23

INTRODUCCIÓN.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	40
LITERATURA CITADA.....	41
ESTUDIO 2. DOSIS ÓPTIMA DE RADIACIÓN GAMMA PARA INDUCCIÓN DE MUTAGÉNESIS EN PASTO ROSADO [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Ziska].....	44
RESUMEN.....	46
ABSTRACT.....	47
INTRODUCCIÓN.....	48
MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
RESULTADOS.....	55
DISCUSIÓN.....	60
CONCLUSIONES.....	65
LITERATURA CITADA.....	66
ESTUDIO 3. RADIACIÓN GAMMA EN SEMILLA DE PASTO ROSADO [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Ziska] PARA GENERAR MUTANTES.....	69
RESUMEN.....	70
ABSTRACT.....	71
INTRODUCCIÓN.....	72
MATERIALES Y MÉTODOS.....	74

Variables Morfológicas.....	75
Análisis Nutricional.....	77
Análisis Estadístico.....	79
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	81
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	98
LITERURA CITADA.....	99

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Distribución y descripción de poblaciones de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka] en el estado de Chihuahua, evaluadas morfológica y nutricionalmente.....	26
2	Estadísticos simples para variables morfológicas cuantitativas de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka] en poblaciones del estado de Chihuahua.....	30
3	Contrastes ortogonales con 20 variables morfológicas cuantitativas, entre poblaciones (P) de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka] del estado de Chihuahua.....	34
4	Composición química del pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], dividido en cuatro poblaciones (POB) del estado de Chihuahua	36
5	Valores propios de los componentes principales (CP) generados a partir de 18 variables morfológicas cuantitativas de 75 plantas de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)	82
6	Contribución de 18 variables morfológicas cuantitativas para la generación de los tres primeros componentes principales (CP), de 75 plantas de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0).....	83
7	Contrastes ortogonales para MANOVA entre grupos (G) generados por análisis Clúster, de 75 individuos de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0).....	88
8	Contrastes ortogonales por variables originales entre Clúster reagrupados de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)	90

9	Composición química por etapa fenológica en ocho mutantes (R150-R300; M1m) de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ y pastos de semilla sin irradiar (RT; M0).....	92
10	Medias ± error estándar con la prueba Dunnett para contenido de fibras y proteína por etapa fenológica, en ocho mutantes (R150-R300; M1m) de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ vs pastos de semilla sin irradiar (RT; M0)	93

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Medias \pm error estándar y agrupamiento Tukey, de composición química nutricional en poblaciones silvestres de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], distribuido en el estado de Chihuahua. POBO = población oeste, POBN = población norte, POBS = población sur, POBC = población centro. HEM = hemicelulosa, CEL = celulosa, LIG = lignina, PC = proteína cruda.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Análisis Clúster por agrupamiento de Ward con base en 20 variables morfológicas cuantitativas, de 65 individuos procedentes de 13 poblaciones de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], distribuidas en el estado de Chihuahua.....	31
2	Medias \pm error estándar y curvas de radiosensibilidad (DL ₅₀ y GR ₅₀) para variables en etapa de germinación y plántula de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], con semilla expuesta a diferentes dosis de radiación gamma con cobalto 60. DL ₅₀ = dosis letal media, GR ₅₀ = reducción media de crecimiento, Gy = Gray, IVge = índice de velocidad de germinación, escala 0-100.....	56
3	Medias \pm error estándar y curvas de radiosensibilidad (GR ₅₀) para variables morfológicas e índice de concentración de clorofila (ICC) de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], en etapa de planta; producidas de semilla expuesta a diferentes dosis de radiación gamma con cobalto 60. GR ₅₀ = reducción media de crecimiento, Gray= Gy.....	58
4	Distribución multivariante en los dos primeros componentes principales (CP) a partir de 18 variables morfológicas cuantitativas, de 75 plantas de pasto rosado (R) [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co ⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (RT; M0). G = grupo.....	84
5	Análisis Clúster por agrupamiento de Ward con base en 18 variables morfológicas cuantitativas de 75 individuos de pasto rosado [<i>Melinis repens</i> (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla expuesta a diferentes dosis de radiación con Co ⁶⁰ (M1) y pastos de semilla sin irradiar (RT; M0).....	86

INTRODUCCIÓN GENERAL

La familia de las gramíneas es cosmopolita, ya que está dispersa y adaptada a diferentes ambientes, lo cual permite que juegue un rol fundamental en el sustento de alimento a nivel mundial. En materia ecológica, ésta contribuye en su mayoría con la cubierta vegetal de la pedósfera, retención de suelo, captación de agua, captura de carbono, bioenergía, entre otros servicios ambientales (Petrie *et al.*, 2014; Brutnell *et al.*, 2015). No obstante, existe un gran vacío en el desarrollo de recursos genéticos y exploración de la diversidad morfológica, funcional, ecológica y económica en gramíneas silvestres (Brutnell *et al.*, 2015). Los cambios ambientales en el bioma de los pastizales han repercutido en la adaptación de algunas plantas ajenas a su entorno original.

La prevalencia de prácticas inadecuadas en el manejo de los agostaderos del norte de México ha comprometido la sustentabilidad de los sistemas de producción. La invasión de pastos exóticos con baja digestibilidad es otro factor de impacto negativo para el ecosistema pastizal. Chihuahua muestra un inventario vegetal con gran cobertura de especies invasoras de mal valor nutritivo (Melgoza *et al.*, 2014). En un estudio comparativo de índice de consumo, Terán-Romo (2010) encontró que para ganado bovino, el pasto rosado presentó 3.5 %, comparado con navajita azul, el cual mostró el 100 % de consumo.

Con respecto a la evolución de las especies, esta ocurre de manera natural por mutaciones espontáneas que generan nuevas estructuras genéticas y permiten la supervivencia de la especie. En este sentido, existen alternativas antropogénicas para la inducción de la variabilidad intraespecífica. Una de éstas es la mutagénesis inducida, técnica que se comenzó a utilizar a principios de

1900, pero fue a partir de 1927 cuando esta práctica se intensificó. Sin embargo, el blanco del mejoramiento genético bajo esta técnica, siempre han sido cultivos focales como: arroz, cebada, maíz, trigo entre otros (Podevin *et al.*, 2013). El uso de radiación gamma es una técnica utilizada en la mutagénesis para inducir variabilidad en la estructura del genoma. Ésta puede ser empleada para modificar características en especies vegetales a partir de la dosis letal media (DL₅₀), considerada como la más adecuada para inducir mutaciones efectivas (Lajonchere *et al.*, 1995; Songsri *et al.*, 2011; Ángeles-Espino, 2013). El mejoramiento genético en pastos a través de mutagénesis representa una alternativa para de apoyo al mejoramiento y recuperación de los pastizales. En pastos silvestres es carente la investigación en mutagénesis inducida. Por ello es importante generar información que contribuya a modificar características en especies invasoras establecidas que perjudican el entorno económico y ecológico. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar al pasto rosado en el estado de Chihuahua e inducir variabilidad a través de mutagénesis con radiación gamma para modificar su morfología y valor nutricional. Los objetivos específicos fueron: caracterizar al pasto rosado desde el punto de vista morfológico y nutricional, determinar la curva de radiosensibilidad gamma en semilla de pasto rosado e identificar mutantes de pasto rosado con características agronómicas de aprovechamiento.

REVISIÓN DE LITERATURA

El deterioro de los agostaderos y gran parte de los recursos naturales se debe en mucho a prácticas antropogénicas como el sobrepastoreo, cambio de uso de suelo, entre otras. El ecosistema pastizal en Chihuahua ocupa la mayor superficie estatal, sin embargo, estudios recientes indican que más del 90 % de éstos se encuentran en condición que va de regular a mala (CONAZA, 1994; Aguirre *et al.*, 2007, Pinedo *et al.*, 2013). El problema se ha agudizado por la baja disponibilidad de agua, pérdida de suelo, salinidad del suelo, temperaturas extremas, entre otros factores implicados en el crecimiento, producción y calidad de forraje (Díaz *et al.*, 2007; Gómez *et al.*, 2007; Ortega-Ochoa *et al.*, 2008). Los cambios en los ecosistemas originales han generado que Chihuahua esté considerado como uno de los estados más afectados por estos fenómenos (Ramírez *et al.*, 2001; Flanders *et al.*, 2006; Vila *et al.*, 2006; Estrada y Villareal, 2010; Morales *et al.*, 2014).

La globalización y el mal uso de los recursos naturales han ocasionado la diseminación de semillas de gramíneas alrededor del mundo. Especies procedentes de distintos continentes se encuentran establecidas en lugares que no corresponden a su hábitat original (Shine *et al.*, 2000). Aun así, algunas de ellas se han adaptado y están consideradas como invasoras, ya que desplazan a especies nativas y endémicas que son clave del ecosistema pastizal. Estudios recientes han reportado una importante reducción y casi desaparición de poblaciones de pastos nativos de gran importancia forrajera como los zacates; navajita azul, banderita (*Bouteloua curtipendula*), punta blanca (*Digitaria californica*), gigante (*Leptochloa dubia*), lobo (*Lycurus pheloides*), entre otras

(Morales y Melgoza, 2010). Dentro de los zacates introducidos invasores podemos citar al rosado (*Melinis repens*) y africano (Flanders *et al.*, 2006; Melgoza *et al.*, 2014). Sin embargo, algunos pastos exóticos como: el garrapata (*Eragrostis superba*) y llorón (*Eragrostis curvula*) han sido mejorados genéticamente y recomendados para su uso en programas de rehabilitación de áreas degradadas, ya que presentan buen potencial de establecimiento y producción de forraje en condiciones de sequía (Ibarra *et al.*, 2005; Echenique *et al.*, 2008; Beltrán *et al.*, 2009).

Pasto Rosado

Esta especie también se conoce como pasto carretero, hierba de lana, natal red top o natal grass. Esta gramínea es anual o perenne nativa de zonas tropicales de África y Asia; está considerada como una de las más agresivas en América (CONABIO, 2009; Melgoza *et al.*, 2014; EWABQ, 2016). En los Estados Unidos de América se ha reportado que esta especie fue introducida a Florida entre 1870 y 1900 como planta ornamental (David y Menges, 2011; Stokes *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2012). Posee alto contenido de lignina, lo cual la hace de baja digestibilidad. Además, por su capacidad de establecimiento éste pasto es considerado como uno de los más invasores en el norte de México (Díaz *et al.*, 2012; Pinedo *et al.*, 2013; Melgoza *et al.*, 2014). Al respecto Herrera-Arrieta y Cortés-Ortiz (2009) infieren que por su condición de agresividad esta especie puede ser considerada para ser cultivada. Sin embargo, por el potencial de diseminación que presenta su semilla se debe tomar en cuenta que puede ser escapada de cultivo. Actualmente en México esta gramínea tiene presencia en todas las entidades federativas (Herrera-Arrieta, 2001; Melgoza *et al.*, 2014).

Descripción Taxonómica del Pasto Rosado

Reino: *Plantae*

Subreino: *Traqueobionta*

Filo: Superdivision: *Spermatophyta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Subclase: *Commelinidae*

Orden: *Cyperales*

Familia: *Poaceae*

Género: *Rhynchelytrum: Melinis*

Especie: *repens*

Mejoramiento Genético

Desde de que el hombre cambió a ser sedentario ha practicado de manera empírica el mejoramiento genético. A la fecha se siguen desarrollando e implementado técnicas, pero el propósito se ha concentrado en mejorar especies de acuerdo a necesidades específicas de interés comercial (Jain y Brar, 2010). Dentro de los métodos de mejoramiento destacan: selección fenotípica de diversidad genética natural, ingeniería genética, hibridación, variación somaclonal y mutagénesis inducida (Gutiérrez *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 2009; Morales *et al.*, 2016). La generación de variabilidad es necesaria para el mejoramiento genético. La variabilidad morfológica en las especies se presenta por cambios genéticos provocados por el medio ambiente donde la radiación ha jugado un papel importante (Segura *et al.*, 2007). La biodiversidad vegetal parte de la cantidad y variedad de especies que conforman un ecosistema. La variación

natural intraespecífica es definida como la variación fenotípica, causada por modificaciones en el ADN que surgen espontáneamente.

Para cumplir con el principio de mutagénesis, la metamorfosis debe ser fijada y mantenerse en la naturaleza hasta un nuevo cambio genético, no obstante la transformación también puede darse de manera artificial (Piñero *et al.*, 2008; Alonso-Blanco *et al.*, 2009; Ruiz *et al.*, 2010; Thole *et al.*, 2011; Xia-Yun *et al.*, 2011). En la ingeniería genética se investiga la recombinación artificial de genes o grupos de genes y es posible ejercer la manipulación dirigida sobre características específicas. Cualquier método antes mencionado puede ser utilizado para mejorar o cambiar la expresión alélica en un vegetal.

En México existe el servicio nacional de inspección y certificación de semilla (SNICS), que funge como un organismo regulador para el registro de una nueva variedad vegetal. Para poder llevar a cabo dicho registro, es necesario demostrar la diferenciación de la especie existente a través de una serie de descriptores. La nueva variedad deberá fijar consistentemente caracteres de expresión genética y morfológica en las próximas generaciones (DOF, 1998; Guiot *et al.*, 2014, Quero *et al.*, 2014).

Mutaciones y Modificación Genética

La evolución ocurre principalmente por mutaciones espontáneas que generan nuevas estructuras genéticas y permiten la supervivencia de la especie, ya que al tener mayor oportunidad de reproducirse logran perpetuar sus genes. La evolución se basa en cuatro procesos para manifestar diferenciación individual (Jiménez y Collada, 2000; Pierce, 2010): 1). Selección natural: donde ciertas características permiten que un individuo tenga mayor éxito de supervivencia y

persistencia, lo cual se interpreta de manera positiva (De Zulueta y Ayala, 2009; Pierce, 2010). 2) Deriva genética: aquí se presenta un cambio estocástico en la expresión alélica por recombinación en la reproducción, pero a diferencia de la selección natural, los cambios pueden ser positivos, sin efecto o negativos para la supervivencia (Keinan *et al.*, 2007). 3) Flujo genético: también conocido como migración, consiste en transferir dominancia alélica de una población a otra, mediante movilidad de ciertos genes interespecíficos, ocurriendo así la hibridación (López *et al.*, 2007). 4) Mutación: esta es la principal fuente de variabilidad genética, puesto que es en este fenómeno es donde ocurren diferentes cambios en la estructura del genoma. Al igual que en deriva genética, este fenómeno puede tener efecto provechoso imparcial o adverso. Una mutación se puede dar mediante recombinación, duplicación o delección en una o varias secciones del ADN, presentarse en secuencias largas, secuencias pequeñas o incluso en un par de nucleótidos (Pierce, 2010).

Existen diferentes agentes mutagénicos, que pueden ser: químicos; análogos de bases, antibióticos, agentes alquilantes entre otros compuestos. Otros mutágenos son los agentes radiactivos, como la radiación ultravioleta, no obstante, ésta ha sido muy restringida en plantas por no ser ionizante y tener limitada habilidad de penetración. Los rayos X descubiertos por Roentgen en 1895, se han utilizado casi desde entonces en diferentes estudios biológicos, sin embargo, las respuestas biológicas y fisiológicas en plantas han sido carentes. Las partículas alfa y beta producen un efecto mayor de penetración que los rayos X, pero aun así, la capacidad de penetración es menor a la de los rayos gamma, los cuales han tenido mayor importancia en la mutagénesis por radiación (Delgado

de la Flor, 1970; Weiner y Matthews, 2003; Podevin *et al.*, 2013). Busey (1980) intentó causar mutaciones con radiación gamma utilizando esquejes de pasto de césped y encontró que en ciertas accesiones con dosis de 45 Gy causó el 50 % de retraso en crecimiento y una supervivencia de 40 %. Otras accesiones con 40 Gy presentaron el 100 % de mortalidad. A medida que la radiactividad aumenta, los individuos mutantes regularmente presentan cambios negativos o degenerativos. Sin embargo, con dosis moderadas de radiación ionizante los impactos sobre la estructura del ADN pueden ser benéficos (Songsri *et al.*, 2011).

Mutagénesis en Gramíneas

El fenómeno de mutagénesis es un proceso natural para los procesos evolutivos. Los rayos cósmicos que logran penetrar la atmósfera causan ligeros cambios en el ADN y la acumulación de estos pequeños cambios, son causa de mutaciones que dan origen a variaciones en las especies vegetales y animales (Ochoa-Carrillo *et al.*, 2016). La mutagénesis inducida es una técnica que acelera los procesos de mutación a partir del uso de agentes mutagénicos. Esta práctica se comenzó a utilizar a principios de 1900 y fue a partir de 1927 cuando ésta se intensificó. Sin embargo, la prioridad del mejoramiento genético bajo esta técnica siempre han sido los cultivos focales: arroz, cebada, maíz, trigo entre otros (Harding *et al.*, 2012; Podevin *et al.*, 2013; Ramchander *et al.*, 2015). La *Arabidopsis thaliana* y el arroz (*Oryza sativa*) se han estudiado ampliamente bajo esta técnica, ya que presentan los genomas más pequeños en plantas vasculares. Esto ha permitido que en estas especies las mutaciones puedan ser dirigidas (Thole *et al.*, 2011; Xia-Yun *et al.*, 2011; Rajarajan *et al.*, 2016). Esta técnica se ha practicado también en especies utilizadas para césped. En 1997

mediante radiación gamma con Co^{60} se produjo la variedad TifEagle de pasto bermuda (*Cynodon dactylon*). Esta variedad se caracterizó por poseer hojas con lámina muy fina, densidad de tallos extremadamente alta y gran resistencia al pisoteo; actualmente es muy utilizada en campos de golf (Hanna y Elsner, 1999). En otras investigaciones se ha logrado producir variedades de césped con talla ultra baja y de mayor resistencia a estrés hídrico (Lu *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2009). Otra especie cespitosa en la que se ha empleado mutagénesis es el pasto San Agustín (*Stenotaphrum secundatum*). En esta especie se obtuvieron diferencias morfológicas al irradiar estolones a dosis entre 10 y 100 Gy (Li *et al.*, 2010). Otras gramíneas modificadas por mutagénesis son el finger millet (*Eleusine coracana*) y el mijo perla (*Pennisetum glaucum-typhoides*). En el Sur de Asia y África éstas especies se usan para doble propósito; producción de grano para humano y producción de forraje para ganado (Horn *et al.*, 2010; Ousmane *et al.* 2013; Ambli y Mullainathan, 2014; Ambavane *et al.*, 2015). Así mismo, con radiación gamma se ha generado variabilidad en pasto sudan (*Sorghum sudanense*; Horn *et al.*, 2010; GolubInova y Gecheff, 2011), pasto elefante (*Pennisetum purpureum*; Pongtongkam *et al.*, 2005) y zacate guinea (*Panicum maximum*; Lajonchere *et al.*, 1995; Pongtongkam *et al.*, 2006).

En las zonas áridas y semiáridas de México los pastizales poseen gran variedad de gramíneas que pueden ser mejoradas para utilizarse en la revegetación y rehabilitación de agostaderos, donde la mutagénesis puede ser una alternativa viable para el mejoramiento de éstas.

Rayos Gamma

Esta radiación es de naturaleza similar a la luz visible o a las ondas de radio y se clasifica como ionizante por tener cargas eléctricas positivas o negativas que facilitan la penetración profunda dentro de ciertos materiales. En este fenómeno participan isótopos de Cesio, Cobalto, Radio, Uranio, Torio, Radón, entre otros. Estos elementos tienen la capacidad de producir ondas cortas (10×10^{-12} m) y energía efectiva para entrar en contacto con el ADN, generando cambios estructurales (Weiner y Matthews, 2003; González y Rabin, 2011). En Japón han sido registradas más de 240 variedades de plantas producidas por mutagénesis, de las cuales el 61% han sido con rayos gamma, por considerar este método de los más efectivos para mejorar cultivos comerciales (Nakagawa, 2009).

En poblaciones donde predomina una sola especie exótica es difícil encontrar variabilidad genética, ya que su proliferación se da en forma de monocultivo. (Nobel, 2009). Por esta razón, el primer paso para inducir mutagénesis con radiaciones ionizantes, es conocer la curva de radiosensibilidad o dosis letal media (DL_{50}). Se ha reportado que para semillas la DL_{50} está relacionada con la radiación absorbida y se refiere la sobrevivencia del 50 % de la población expuesta. Morela *et al.* (2002) señalaron que para programas de mejoramiento genético, es en esta proporción donde existe mayor frecuencia de mutaciones útiles. En el mismo sentido, otros investigadores coinciden en que través de radiación gamma se puede determinar la curva de radiosensibilidad como punto de partida para el mejoramiento genético en distintas especies (Lajonchere *et al.*, 1995; Songsri *et al.*, 2011; Ángeles-Espino, 2013).

Cobalto 60 (CO⁶⁰)

Algunos investigadores han señalado la utilidad de las radiaciones ionizantes para inducir mutaciones en las plantas de cultivo y pastos forrajeros. El Co⁶⁰ es un elemento altamente radiactivo que por su capacidad de emisiones gamma es utilizado para el mejoramiento genético en diferentes cultivos (Powell y Toler, 1980; Krishna et al., 1984; Ángeles-Espino *et al.*, 2013). Este metal tiene la capacidad de provocar mutaciones genómicas y activar la nucleosíntesis en células eucariotas. La vida media del Co⁶⁰ es de 5.27 años y es un isótopo que se produce sintéticamente por bombardeo y activación de neutrones. En su desintegración decae a níquel por emisión de dos partículas beta y un gamma. Los principales usos del Co⁶⁰ son; esterilización de equipo médico, radioterapia, esterilización de alimentos, esterilización de insectos y mutaciones genómicas entre otros (Cancino *et al.*, 2012). La intensidad de la radiación ionizante depende de la vida útil de la fuente radiactiva. La dosis de radiación se mide en Gray (Gy) y está en función de la vida útil, distancia y tiempo de exposición del material expuesto a la fuente de radiación (ATSDR, 1999).

Variables Ambientales

Para el mejoramiento genético es de suma importancia conocer factores ambientales que puedan influir en la expresión alélica. La temperatura, humedad, radiación, concentración de CO₂, entre otros, influyen de manera importante en el desarrollo y expresión fenotípica de cultivos y plantas silvestres (Hopkins, 1999; Nobel, 2009; Avendaño *et al.*, 2012). Existe gran diferencia en el control de estas variables en condiciones de campo, comparadas con invernadero. No obstante, es posible la utilización de hardware y software especializados que

capturen datos en ambos ambientes para considerar variables de mayor impacto e interés. La complejidad y tipo de dispositivos dependerá del tamaño del invernadero, vivero o área que se desea monitorear. Este procedimiento puede ser por medio de sonido, vibración, presión, movimiento, flujos de aire, entre otros (Aakvaag, 2006; Keshtgari y Deljoo, 2012).

LITERATURA CITADA

- Aakvaag, N. y J. E. Frey. 2006. Redes de sensores inalámbricos. ABB.1:39-42.
- Aguirre, C., J. Hoth y A. Lafón. 2007. Estrategias para la Conservación de Pastizales del Desierto Chihuahuense (ECOPAD). Chihuahua, México. 1:1-23
- Alonso-Blanco, C., G. M. Mark, B. Leonie, J. B. Joost, R. Matthieu, V. Dick y K. Maarten. 2009. What Has Natural variation taught us about plant development, physiology, and adaptation? *Plant. Cell.* 21:1877–1896.
- Ambavane, A. R., S. V. Sawardekar, S. A. Sawantdesai y N. B. Gokhale. 2015. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 8:120-125.
- Ambli, K. y L. Mullainathan. 2014. Effect of gamma rays and ems on seed germination and seed characters in pearl millet (*Pennisetum typhoides* (Burn.) Stapf. Var. CO (Cu)-9. *J. Chem. Biol. Phys. Sci.* 4:3345-3349.
- Ángeles-Espino, A., A. J. Valencia-Botín², G. Virgen-Calleros, C. Ramírez-Serrano, L. Paredes-Gutiérrez y S. Hurtado-De la Peña. 2013. Determinación de la dosis letal (DL50) con Co60 en vitroplántulas de Agave tequilana var. Azul. *Rev. Fitotec. Mex.* 36:381-386.
- ATSDR. 1999. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement ionizing radiation. En: <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=482&tid=86>. Consultado 26 Agosto 2015.
- Avendaño, A. C. H., J. Iñiguez, M. L. Arévalo, V. M. Cisneros, J. F. Aguirre, E del C. Moreno, M. Cortés, C. R. Castillo y P. Ramírez. 2012. Variación genética en el complejo infraespecífico de chayote evaluada mediante sistemas isoenzimáticos. *Pesq. Agropec. Bras. Brasíliá.* 47:244-252.
- Beltrán, L. S., O. Loredó, C. A. García, J. A. Hernández, J. Urrutia, H. G. Gámez, L. A. González y T. Núñez. 2009. Llorón imperial y garrapata Hércules, nuevas variedades de pastos para el altiplano de San Luis Potosí (Establecimiento y producción de semilla). Centro Experimental San Luis. INIFAP-SAGARPA. Folleto técnico. 36:1-35.
- Brutnell, P., J. L. Bennetzen y J. P. Vogel. 2015. *Brachypodium distachyon* and *Setaria viridis*: Model genetic systems for the grasses. *Annual review of plant biology.* 66:465-48.
- Busey, P. 1980. Gamma ray dosage and mutation breeding in st. augustinegrass. *Crop Science.* 20:181-184.

- Cancino, J., L. Ruíz, M. Viscarret, J. Sivinski y J. Hendrichs. 2012. Application of nuclear techniques to improve the mass production and management of fruit fly parasitoids. *Insects* 3:1105-1125.
- Chen, C., S. Lu, Y. Chen, Z. Wang, Y. Niu y Z. Gu. 2009. A Gamma-ray–Induced Dwarf Mutant from Seeded Bermudagrass and Its Physiological Responses to Drought Stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 134:22–30.
- CONABIO. 2009. Comisión Nacional de la Biodiversidad. En: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/rhynchelytrum-repens/fichas/ficha.htm>. Consultado 15 octubre 2015.
- CONAZA, 1994. Comisión Nacional de Zonas Áridas. Manejo y rehabilitación de agostaderos de las zonas aridas y semiaridas de México: región norte. CONAZA, México. 119 p.
- David, A. S. y E. S. Menges. 2011. Microhabitat preference constrains invasive spread of non-native natal grass (*Melinis repens*). *Biol Invasions*. 13:2309-2322.
- De Zulueta, A. y F. J. Ayala. 2009. El origen de las especies por medio de la selección natural, Charles Darwin. Editorial Los Libros de la Catarata. Madrid, España.
- Delgado de la Flor, B. L. F. 1970. Frecuencia de mutaciones inducidas por radiación Gamma y metanosulfanato de etilo en la semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba. Costa Rica.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 1998. del Registro Nacional de Variedades Vegetales. Capítulo 8, Artículos 49-54.
- Díaz, A., E. Flores, A. De Luna, J. J. Luna, J. T. Frías y V. Olalde. 2012. Biomasa aérea, cantidad y calidad de semilla de *Melinis repens* (Willd.) Zizka, en Aguascalientes, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3:33-47.
- Díaz, T., N. Pérez, F. Páez, A. López y L. Partidas. 2007. Evaluación del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) en función de dos técnicas de riego y diferentes niveles de nitrógeno. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. 16:84-87.
- Echenique, V., S. Pessino, M. Díaz, J. P. Selva, G. Luciani, D. Zappacosta, G. Cervigni, M. Meier, I. Garbus, S. Cardone, R. Miranda y G. Spangenberg. 2008. Aportes de la biotecnología al mejoramiento del pasto llorón (*Eragrostis curvula*). *Revista Argentina de Producción Animal* 28: 147-164.
- Estrada, E. y J. A. Villarreal. 2010. Flora del centro del estado de Chihuahua, México. *Acta Botánica Mexicana*. 92:51-118.

- EWABQ, 2016. Environmental Weeds of Australia for Biosecurity Queensland. En:https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/melinis_repens.htm. Consultado 01 octubre 2016.
- Flanders, A., W. Kuvlesky, D. Ruthven, R. Zaiglin, R. Bingham, T. Fulbright, F. Hernández y L. Brennan. 2006. Effects of invasive exotic grasses on South Texas rangeland breeding birds. *Auk*. 123:171-182.
- Golubnova, I. y K. Gecheff. 2011. M1 cytogenetic and physiological effects of gamma-rays in sudan grass (*Sorghum Sudanense* (piper.) stapf). *Bulgarian Journal of Agricultural Sciences* 17: 417-423.
- Gómez, E., H. Díaz, A. Saldívar, F. Briones, V. Vargas y W. Grant. 2007. Patrón de crecimiento de pasto buffel [*Pennisetum ciliare* L. (Link.) Sin. *Cenchrus ciliaris* L.] en Tamaulipas, México. *Téc. Pecu. Méx.* 45:1-17.
- González, S. G. y C. L. Rabin. 2011. Para entender las radiaciones. Energía nuclear, medicina, industria. 1ª Ed. Facultad de Ciencias Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Guiot, G. J. D., S. Salomé, A. R. Quero, A. Carballo, J. Enríquez y S. Beltrán. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). Guía Técnica Varietal. SNICS-SAGARPA. México. 1:1-22.
- Gutiérrez, M. A., R. F. Santacruz, P. J. L. Cabrera y G. B. Rodríguez. 2003. Mejoramiento genético vegetal in vitro. e-Gnosis. 1:1-19.
- Hanna, W. y E. Elsner. 1999. Registration of "TifEagle" bermudagrass. *Crop. Sci.* 39:1258.
- Harding, S. S., S. D. Johnson, D. R. Taylor, C. A. Dixon y M. Y. Turay. 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.
- Herrera-Arrieta, Y. 2001. Las Gramíneas de Durango. Primera edición. IPN-CONABIO. Durango, México.
- Herrera-Arrieta, Y. y A. Cortés-Ortiz. 2009. Diversidad de las gramíneas de Durango, México. *Polibotánica*. 28:49-68.
- Hopkins, W. C. 1999. Introduction to plant Physiology. 2a ed. Editorial John & Wiley Sons Inc. IN. USA.
- Horn, L. N., M. B. A. Chikelu, C. Mba, B. Soleymanne y S. N. A. Ipinge. 2010. Radiosensitivity studies in pearl millet (*Pennisetum glaucum*), cow pea (*Vigna unguiculata*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties in Namibia. *Agricola* 20: 38-40. Jauhar, P. P. 2012. Citogenética of the *Festuca-Lolium* complex. Relevance to Breeding. Editorial Springer-Verlag. NY. USA.

- Ibarra, F. F., M. H. Martín, S. Moreno, F. G. Denogean y L. E. Gerlach. 2005. EL zacate buffel como una alternativa para incrementar la rentabilidad de los ranchos en la zona serrana de Sonora. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 9:521-529.
- Jain, M. S., y D. S. Brar. 2010. *Molecular techniques in crop*. 2da ed. Editorial Springer Science+Business Media. Heidelberg, Germany.
- Jauhar, P. P. 2012. *Citogenética of the Festuca-Lolium complex. Relevance to Breeding*. Editorial Springer-Verlag. NY. USA.
- Jiménez, P. y C. Collada. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Invest. Agr. Sist. Recur. For.* 2:237-248.
- Keinan, A., J. C. Mullikin, N. Patterson y D. Reich. 2007. Measurement of the human allele frequency spectrum demonstrates greater genetic drift in East Asians than in Europeans. *Nature Genetics*. 39:1251-1255.
- Keshtgari, M. y A. Deljoo. 2012. A wireless sensor network solution for precision agriculture based on zigBee Technology. *Journal Wireless Sensor Network*. 6:25-30.
- Krishna, G., G. Shivashankar y J. Nath. 1984. Mutagenic response of Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth.) to gamma rays. *Euphytica* 33:517-524.
- Lajonchere, G., A. R. Mesa, M. Prieto y E. Sánchez. 1995. Curva de radiosensibilidad con ^{60}Co en guinea (*Panicum maximum* Jacq.) cv. K-249. *Revista Pastos y Forrajes*. 18:1-8.
- Li, R., A. H. Bruneau y R. Qu. 2010. Morphological mutants of St. Augustinegrass induced by gamma ray irradiation. *Plant Breed.* 129:412-416.
- Lu, S., Z. Wang, Y. Niu y Z. Guo. 2008. Antioxidant responses of radiation-induced dwarf mutants of bermudagrass to drought stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133:360–366. López, D. C., C. Jaramillo y F. Ghul. 2007. Estructura poblacional y variabilidad genética de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de diferentes áreas geográficas de Colombia. *Biomédica*. 27:28-39.
- Lu, S., Z. Wang, Y. Niu, Y. Chen, H. Chen, Z. Fan, J. Lin, K. Yan, Z. Guo y H. Li. 2009. Gamma-ray radiation induced dwarf mutants of turf-type bermudagrass. *J. Plant Breed.* 128:205-209.
- Melgoza, C. A., M. I. Valladares, R. Mata y C. Pinedo. 2014. Biología del pasto rosado *Melinis repens* e implicaciones para su aprovechamiento o control. *Revisión. Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 5:429-442.
- Morales, N. C. R., C. Avendaño, A. Melgoza, K. Gil, A. Quero, P. Jurado y M. Martínez. 2016. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones

- de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua, México. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 7:455-469.
- Morales, N. C. R., C. E. Vélez, C. Pinedo y O. G. Gutiérrez. 2014. Características del zacate rosado (*Melinis repens*) y su comportamiento como especie invasora en pastizales de Chihuahua. Manual técnico N° 12. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología. Chihuahua, Chihuahua, México.
- Morales, N. C. R., L. Madrid, A. Melgoza, M. Martínez, S. Arévalo, Q. Rascón y P. Jurado. 2009. Análisis morfológico de la diversidad del pasto [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. Tec. Pecu. Méx. 47:245-256.
- Morela, F., V. González y L. Castro. 2002. Efecto de la radiación Gamma sobre la diferenciación de plantas de caña de azúcar a partir de callos. Agron. Trop. 52:311-323.
- Nakagawa, H. 2009. Induced mutations in plant breeding and biological researches in Japan. FAO. Rome. 51-58.
- Nobel, P. S. 2009. Physicochemical and environmental plant physiology. 4ta ed. Editorial Elsevier Academic Press. CA. USA.
- Ochoa-Carrillo, F. J., R. Carrillo-Esper, Á. A. Pérez-Calatayud, D. M. Carrillo-Córdova y C. A. Carrillo-Córdova. Impacto de la microgravedad y la radiación espacial en el comportamiento celular y carcinogénesis. En medicina espacial. R. Carrillo-Esper, J. A. Díaz Ponce-Medrano y L. Padrón-San Juan, eds. Intersistemas. D.F. México.
- Ortega-Ochoa, C., C. Villalobos, J. Martínez-Nevares, C. M. Britton y E. Sosebee. 2008. Chihuahua's cattle industry and a decade of drought: economical and ecological implications. Rangelands. 32:2-7.
- Ousmane, S. D., W. Elegba y K Danso. 2013. Radio-sensibility 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.
- Pierce, B. A. 2010. Genética, un enfoque conceptual. 3ra ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- Pinedo, A. C., Q. N. S. Hernández, A. Melgoza, V. M. Rentería, S. V. C. Vélez, N. C. Morales, R. M. Quintana, E. E. Santellano y E. Esparza. 2013. Diagnóstico actual y sustentabilidad de los pastizales del estado de chihuahua ante el cambio climático. Cuerpo Académico de Recursos Naturales y Ecología (UACH-CA16). Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México.

- Piñero, D., A. Barahona, L. Eguiarte, A. Rocha, R. Salas, P. Díaz, E. Morales y D. Zizumbo-Villarreal. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas. CONABIO Capital natural de México. 1:415-435.
- Podevin, N., H. V. Davis, F. Hartung, F. Nogué y J. M. Casacuberta. 2013. Site-directed nucleases: a paradigm shift in predictable, knowledge-based plant breeding. *Trends in Biotechnology*. 31:375-383.
- Pongtongkam, P., S. Nilratnisakorn, S. Piyachoknakul, A. Thongpan, J. Aranananth, K. Kowitwanich y S. Tadsri. 2005. Inducing salt tolerance in purple guinea grass (*Panicum maximum* TD58) via gamma irradiation and tissue culture. *Nat. Sci.* 39:681-688.
- Pongtongkam, P., S. Peyachoknagul, J. Arananant, A. Thongpan y S. Tudsri. 2006. Production of salt tolerance dwarf napier grass (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) using tissue culture and gamma irradiation. *Nat. Sci.* 40:625-633.
- Powell, J. B. y R. W. Toler. 1980. Induced mutations in 'Floritam' St. Augustine grass. *Crop. Sci.* 20:644-646.
- Quero, C. A. R., J. D. Guiot, S. Salinas, J. F. Enríquez, S. Beltrán, M. R. Tovar y B. Cruz. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.)Torr.]. Guía Técnica Varietal. SNICS-SAGARPA. México. 1:1-23.
- Rajarajan. D., R. Saraswathi y D. Sassikumar. 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., R. Ushakumari y M. A. Pillai. 2015. Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. *Indian Journal of Agricultural Research*. 49:24-31.
- Ramírez, R. G., A. Enríquez y F. Lozano. 2001. Valor nutricional y degradabilidad ruminal del zacate buffel y nueve zacates nativos del NE de México. *Ciencia UANL*. 4:314-321.
- Ruiz, E., K. balboa, M. A. Negritto, C. M. Baeza, G. Fuentes y V. Briceño. 2010. Variabilidad genética y morfológica y estructuración poblacional en *Alstroemeria hookeri* subsp. *hookeri* (*Alstroemeriaceae*), endémica de Chile. *Revista Chilena de historia natural*. 83:605-616.
- SAG (Sociedad Argentina de Genética). 2012. Genética y mejoramiento vegetal. *Journal of Basic & Applied Genetics*. 23:228-283.

- Segura, M., C. Rojo y M. A. Rodrigo. 2007. Factores que controlan la variabilidad morfológica de *Pediastrum tetras* bajo diferentes condiciones experimentales. *Limnetica*. 26: 233-242.
- Shine, C., N. Williams y L. Gündling. 2000. A guide to designing legaland institutional frameworkson alien invasive species. IUCN-The World Conservation Union. Editorial Daemisch Mohr. Siegburg, Germany.
- Songsri, P., B Suriharn, J. Sanitchon, S. Srisawangwong y T. Kesmala. 2011. Effects of Gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). *J. Biol. Sci.* 11:268-274.
- Stokes, C. A., G. E. MacDonald, C. R. Adams, K. A. Langeland y D. L. Miller. 2011. Seed biology and ecology of natal grass (*Melinis repens*). *Weed Sci.* 59:527-532.
- Terán-Romo, A. 2010. Índice de consumo de especies *Bouteloua gracilis* y *Melinis repens* y su efecto en la composición fisicoquímica del suelo. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Victoria de Durango, Durango. México.
- Thole, V., A. Peraldi, B. Worland, P, Nicholson, J. H. Doonan y P. Vain. 2011. T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany*. 10:1-10.
- Vila, M., S. Bacher, P. Hulme, M. Kenis, M. Kobelt, W. Nentwig, D. Sol y W. Solarz. 2006. Impactos ecológicos de las invasiones de plantas y vertebrados terrestres en Europa. *Ecosistemas*. 2:1-12.
- Weiner, R. F. y R. A. Matthews. 2003. Environmental engineering. 4a Ed. Butterworth-Heineman. Oxford, UK.
- Xia-Yun, J., S. Cheng-Fei, Z. Quan-Gen y Z. Shu-Ming. 2011. ENU-Induced Mutagenesis in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) by Treating Mature Sperm.

**ESTUDIO 1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y NUTRICIONAL DE
PASTO ROSADO [*Melinis repens* (Willd.) Ziska] EN EL ESTADO DE
CHIHUAHUA**

Corrales-Lerma Raúl¹, Avendaño-Arrazate Carlos Hugo^{2*}, Morales-Nieto Carlos
Raúl¹, Guerrero-Villarreal Federico¹, Santellano-Estrada Eduardo¹, Melgoza-
Castillo Alicia¹, Álvarez-Holguín Alan¹

¹Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Periférico Francisco R. Almada kilómetro 1. Código postal 31000. Chihuahua, Chihuahua. México. ²Instituto del Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Campo Experimental Rosario Izapa, Carretera Tapachula-Cacahoatán kilómetro 18. Código postal 30870. Tuxtla Chico, Chiapas. México.

*Autor de correspondencia: avendano.carlos@inifap.gob.mx tel. 962-121-0383.

RESUMEN

El pasto rosado tiene la capacidad de invadir y desplazar especies nativas de importancia ecológica. En México se desconoce la variabilidad que presenta esta especie, ya que tiene un tiempo relativamente corto de estar establecido. El objetivo fue caracterizar poblaciones silvestres de pasto rosado a través de descriptores físicos y químicos, para determinar su diversidad morfológica y composición nutricional en el estado de Chihuahua. Se caracterizaron morfológicamente 13 poblaciones en etapa fenológica madura y se determinó el contenido de fibras y proteína cruda (PC). Los datos morfológicos se analizaron a través de Análisis Clúster y MANOVA. El valor nutricional se analizó con ANOVA y comparación de medias con la prueba Tukey. No se encontró diversidad morfológica suficiente para diferenciar las poblaciones de pasto rosado en el estado de Chihuahua. Se determinó el contenido nutricional y se encontró diferencia ($p < 0.05$) de PC entre poblaciones. Con base en el aporte nutricional presentado, se estimó un valor forrajero de regular a bueno para esta especie.

Palabras clave: diversidad, especie invasora, poblaciones silvestres.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION OF NATAL GRASS [*Melinis repens* (Willd.) Zizka] IN STATE OF CHIHUAHUA

Natal grass has capacity to invade and displaced native species of ecological importance. The variability of this species is unknown in Mexico because it has a relatively short time of being established. The objective was to characterize wild populations of Natal grass through physical and chemical descriptors, to determine their morphological diversity and nutritional composition in Chihuahua, México. The morphological characterization included 13 populations in mature stage. In addition, fiber content and crude protein (CP) were determined. Morphological data were analyzed through Cluster and MANOVA. Structural fibers and PC were analyzed with ANOVA and comparison of means with the Tukey test. Not enough diversity was found in ecotypes of Natal grass populations from the State of Chihuahua. Nutritional content was determined and differences ($p < 0.05$) of CP were found among populations. Based on the nutritional contribution of Natal grass, the forage value for this species was estimated from regular to good.

Key words: diversity, alien species, wild populations.

INTRODUCCIÓN

El pasto rosado es una especie originaria de Sudáfrica, en América es una de las gramíneas más invasoras (Herrera y Cortez, 2009). Los descriptores vegetales contribuyen a la identificación de una especie con características expresadas de acuerdo a variables de topografía, clima, edafología, entre otras. Algunas gramíneas se han diferenciado naturalmente o han sido modificadas y seleccionadas por caracteres específicos que difieren física o químicamente (Brutnell *et al.*, 2015). El valor nutricional de las gramíneas es otro factor que diferencia especies y variedades. El pasto rosado posee alto contenido de lignina y bajo de proteína, lo cual reduce su digestibilidad (Flores *et al.*, 2016; Melgoza *et al.*, 2014). No obstante, el valor nutricional puede cambiar de acuerdo a factores medioambientales y genéticos en ecotipos o poblaciones.

A la fecha se conoce la distribución global, descripción taxonómica y algunas características de orden general del pasto rosado, basadas en descriptores morfológicos y moleculares (Vicentini *et al.*, 2008; Melgoza *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2015). Sin embargo, se desconoce la mayoría de sus características morfológicas y aporte nutricional. El objetivo fue caracterizar poblaciones silvestres de pasto rosado a través de descriptores físicos y químicos, para determinar su diversidad morfológica y composición nutricional en el estado de Chihuahua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se caracterizaron 12 poblaciones silvestres de pasto rosado distribuidas en diferentes ecoregiones del estado de Chihuahua, las cuales presentan variación en precipitación, temperatura y altitud (INEGI, 2015; Cuadro 1). El criterio para seleccionar poblaciones fue que presentaran una distancia mínima de 40 km entre población. Además, se incluyó una población de plantas desarrolladas en invernadero con semilla de poblaciones silvestres. Las plantas en campo se seleccionaron a una edad aproximada de 1.5 años y diámetro de macollo entre 9 y 12 cm, similar a las desarrolladas en invernadero. El total de plantas evaluadas fue de 65, con cinco individuos por población en etapa de madurez temprana, previo al desprendimiento de semilla. En cada planta se midieron 20 variables morfológicas con base en las guías de descriptores varietales para pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*; Guiot *et al.*, 2014) y banderita (*Bouteloua curtipendula*; Quero *et al.*, 2014).

Las variables fueron: hábito de crecimiento (HCR; °), se midió la inclinación perimetral de la planta con un transportador. Altura de follaje (AF; cm), se midió del suelo al término de la densidad foliar, sin considerar hojas bandera. Altura de planta (AP; cm), se midió del suelo al ápice más alto de la planta. Proporción altura de follaje-altura planta (pFP), se dividió la altura de follaje entre altura de planta. Peso de biomasa aérea sin semilla (BSS; gr), se cosechó la semilla de la planta, se cortó la BSS y se secó a temperatura constante de 65 °C durante 48 h. Peso de biomasa aérea con semilla (BCS; gr), se sumó el peso de la semilla al peso de biomasa aérea sin semilla. Proporción peso de semilla-peso de

Cuadro 1. Distribución y descripción de poblaciones de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], en el estado de Chihuahua, evaluadas morfológica y nutricionalmente

Población	Localidad	Ubicación geográfica
P0	Invernadero Facultad de Zootecnia y Ecología	28° 35' 07" N, 106° 06' 23" O
P1	Palomas-Rancho de Peña	28° 21' 19" N, 106° 15' 47" O
P2	El Chamizal-Rancho los Ruíz	28° 00' 45" N, 106° 09' 26" O
P3	Presa Las Vírgenes-Delicias	28° 04' 37" N, 105° 41' 57" O
P4	Rancho El Ojito-Ejido Ciénega de Los padres	28° 27' 42" N, 105° 45' 03" O
P5	Curvas del Perico-Ejido Ocampo	28° 48' 54" N, 106° 13' 12" O
P6	Rancho experimental La Campana-Ejido El Faro	29° 18' 49" N, 106° 24' 12" O
P7	Entronque carretera Namiquipa-Ejido Vella Vista	29° 05' 08" N, 106° 22' 32" O
P8	Tutuaca-San Fco. de Borja	28° 01' 10" N, 106° 34' 50" O
P9	Ejido Laborcita de San Javier-Rancho Barraganes	28° 22' 44" N, 106° 40' 48" O
P10	Satevó-Valle de Zaragoza	27° 39' 34" N, 106° 01' 03" O
P11	Valle de Zaragoza-Hidalgo del Parral	27° 25' 12" N, 105° 46' 52" O
P12	Hidalgo de Parral-Jiménez	26° 56' 25" N, 105° 36' 12" O

biomasa aérea (pSB), se dividió el peso de la semilla producida por la planta entre BCS. Largo de limbo (LLH; cm), se seleccionaron tres hojas a una altura media del follaje en tallos centrales y se midió desde lígula hasta ápice. Ancho de limbo (ALH; mm), se midió en la parte más ancha de lámina en las mismas hojas que se midió longitud. Concentración de clorofila (ICC; índice), se utilizó un medidor de clorofila Opti-Sciences CCM-200 y se midieron las mismas tres hojas que se utilizaron para largo y ancho. Largo de limbo de hoja bandera (LHB; cm), se midió longitud de lámina entre lígula y ápice de la hoja más alta en tres tallos centrales. Ancho de limbo de hoja bandera (AHB; mm), se midió en la parte central de la lámina, de la misma hoja donde se midió longitud. Diámetro de tallo (DIT; mm), se seleccionó un tallo central y se midió con vernier estándar la parte media del primer entrenudo. Longitud del raquis de la panícula (LRQ; cm), se midió de la base del pedicelo de la ramilla basal al ápice de la inflorescencia en tallo central. Número de ramillas en raquis de panícula (RRQ), se contaron las ramillas unidas al raquis principal. Longitud de ramilla basal (LRB; cm), se midió de la base del pedicelo al ápice de la ramilla inferior. Número de ramillas en ramilla basal (RRB), se registró la cantidad de ramillas unidas al raquis. Longitud de pedicelo de ramilla basal (PDI; mm), se midió el pedicelo de la ramilla basal. Longitud de pedúnculo (PDU; cm), se midió longitud del tallo desnudo entre lígula de hoja bandera y base del pedicelo. Peso de semilla (PSE; gr), se cosechó, seco y pesó el total de semilla de la planta.

En el análisis nutricional se excluyó la P0 y las 12 poblaciones silvestres se clasificaron en cuatro nuevas poblaciones (NPO). Cada NPO se constituyó de 15 plantas agrupadas por gradiente; norte (PNOR), centro (PCEN), sur (PSUR)

y oeste (POES). La materia seca (MS) se molió entre 0.1 y 1.0 mm, posteriormente se obtuvo una alícuota de MS de cada NPO. Para estimar materia seca absoluta del pasto (MASP), nuevamente se colocaron las muestras en la estufa a 105 °C durante 24 h. De acuerdo al protocolo Ankom basado en el método descrito por Goering y Van Soest (1970), se determinó fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA) con tres repeticiones por NPO. Los porcentajes de hemicelulosa (HEM), celulosa (CEL) y lignina (LIG) se determinaron por diferencia. El contenido de PC se determinó de acuerdo al protocolo LECO, basado en el método de combustión DUMAS, con tres repeticiones por NPO con la misma MS preparada para el análisis de fibras.

Las variables morfológicas se analizaron con análisis Clúster (ACL), mediante la matriz de correlación y el método de ligamiento de Ward. El nivel de similitud entre grupos se tomó a criterio de los pseudo estadísticos F y T^2 , con base en el coeficiente de Pearson (R^2). Además, se incluyó Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA) con Contrastes Ortogonales entre poblaciones y por variable. Para contenido nutricional se incluyó Análisis de Varianza (ANOVA) y comparación de medias con la prueba de Tukey. El programa estadístico utilizado fue SAS 9.1.3 (2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, los coeficientes de variación (CV) fueron relativamente bajos para la mayoría de las variables, con excepción de PSE, ICC, pSB, BBS y BCS que presentaron valores del 37 % en adelante (Cuadro 2). La variable que presentó el CV y valor relativo más alto en intervalo de valores mínimos y máximos, fue PSE. Por otro lado, RRQ fue la del menor CV y menor valor de intervalo relativo. La máxima altura de planta encontrada en estas poblaciones fue de 125 cm, lo cual supera los 100 cm que otros autores reportan como máxima para el pasto rosado (Häfliger y Scholz, 1980; Herrera y Pámanes, 2006; Melgoza *et al.*, 2016). Otras variables que se diferenciaron de otros estudios fueron LLH, ALH y LRQ. En el estado de Durango, Herrera y Pámanes (2006) reportaron algunos descriptores de pasto rosado; lamina de hoja de 6 a 17 cm de largo, ancho de hoja de 2 a 5 mm, panícula de 14 a 22 cm de largo, ramillas o espiguillas de 3.5 a 5 cm de largo. Por otro lado, Melgoza *et al.* (2016) describen a esta especie con hojas menores a 10 cm e inflorescencia de 8 a 15 cm. En Estados Unidos se reporta, lámina de hoja hasta 20 cm de longitud, 3 a 10 mm de ancho y panícula de 10 a 15 cm de largo (Hitchcock, 1950; Häfliger y Scholz, 1980). Las diferencias a lo reportado en este estudio, indican que las poblaciones del pasto rosado del estado de Chihuahua pueden presentar diferencias morfológicas, comparadas con poblaciones de otros estados o países.

El ACL muestra la distribución por individuo de acuerdo al valor de sus variables (Figura 1). Para coincidir con el número de poblaciones evaluadas originalmente, se formaron 13 grupos a partir de las variables cuantitativas

Cuadro 2. Estadísticos simples para variables morfológicas cuantitativas de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], en poblaciones del estado de Chihuahua

Variable	Media	Desv. estándar	C. V.	Valor Mínimo	Valor Máximo
HCR	66.08	8.59	0.13	50.00	85.00
AF	48.26	7.59	0.16	32.00	65.00
AP	99.15	9.31	0.09	81.00	125.00
pFP	0.49	0.05	0.11	0.34	0.59
DIT	1.79	0.35	0.20	1.20	2.70
LLH	13.43	3.09	0.23	6.00	23.00
ALH	6.97	0.91	0.13	5.50	9.00
LHB	5.87	1.61	0.27	3.80	12.30
AHB	3.97	0.81	0.21	2.50	6.00
ICC	5.35	2.49	0.47	2.10	13.80
LRQ	18.17	1.41	0.08	14.50	21.00
RRQ	13.62	0.96	0.07	11.00	16.00
PDU	10.75	1.30	0.12	7.00	13.50
LRB	8.41	1.32	0.16	4.50	10.50
RRB	6.55	0.81	0.12	5.00	8.00
PDI	1.45	0.26	0.18	0.50	1.80
PSE	3.26	1.85	0.57	0.57	9.34
BBS	24.74	9.27	0.37	7.16	45.93
BCS	28.01	10.48	0.37	7.93	51.58
pSB	0.12	0.05	0.40	0.03	0.23

C.V. = coeficiente de variación, HCR= hábito de crecimiento, AF= altura de follaje, AP= Altura de planta, pFP= proporción follaje-planta, DIT= diámetro de tallo, LLH= Longitud de limbo de hoja, ALH= Ancho de limbo de hoja, LHB= Longitud de limbo de hoja bandera, AHB= Ancho de limbo de hoja bandera, ICC= Índice de concentración de clorofila, LRQ= Longitud de raquis, RRQ= número de ramillas en el raquis, PDU= Longitud de pedúnculo, LRB= Longitud de ramilla basal, RRB= Número de ramillas en la ramilla basal, PDI= Longitud del pedicelo de la ramilla basal, PSE= peso de la semilla de toda la inflorescencia, BBS= Peso de biomasa aérea sin semilla, BCS= peso de la biomasa aérea más el peso de la semilla (peso total de biomasa aérea), pSB= proporción semilla-biomasa aérea.

originales. Los pseudo estadísticos F y T² mostraron un coeficiente de similitud $R^2 = 0.82$ entre los nuevos grupos. Por el número de poblaciones y variables incluidas en el ACL, se considera que este coeficiente marca un alto grado de similitud, lo cual disminuye la probabilidad de encontrar diferencias morfológicas significativas. Esto sucede porque a medida que aumenta la interacción de los datos, la distancia entre grupos disminuye (Archer y Maples, 1987; Vega-Dienstmaier y Arévalo-Flores, 2014).

El dendograma distribuyó los individuos de las poblaciones originales en diferentes nuevos grupos. Solo los individuos de la población (P1) se conservaron reagrupados en un mismo clúster. Sin embargo, este nuevo grupo incluyó individuos de las P3, P5 y P8, lo cual reduce la posibilidad de que los individuos de la P1 sean un ecotipo diferente. El resto de los individuos se agruparon de manera dispersa en nuevos grupos, sin importar su procedencia o población. Lo anterior indica que por el tiempo que tiene establecido el pasto rosado en Chihuahua, no ha presentado diversidad morfológica suficiente para ser diferenciado fenotípicamente por poblaciones. En pastos nativos se han realizado estudios de caracterización morfológica y se ha encontrado alta diversidad en el estado de Chihuahua (Morales *et al.*, 2013; Morales *et al.*, 2015; Morales *et al.*, 2016). A diferencia de estas especies nativas del norte de México, el pasto rosado parece no presentar gran variación morfológica en Chihuahua.

De manera global se encontró diferencia estadística ($p < 0.001$) multivariada entre poblaciones originales, sin embargo, no todas las poblaciones presentaron diferencias ($p > 0.05$) entre sí. Con respecto a la P0, se esperaría que por las condiciones que se generan en invernadero, sus individuos fueran

diferentes a las poblaciones silvestres. No obstante, al comparar entre poblaciones originales la P0 no fue diferente ($p > 0.05$) a las P5, P6, P7 y P10. Así mismo, la P10 no se diferenció ($p > 0.05$) de las P2, P4, P8 y P12. Las únicas poblaciones que presentaron diferencia ($p < 0.05$) entre ellas y con el resto, fueron P1, P3 y P11 (Cuadro 3).

Algunas poblaciones presentaron variabilidad morfológica, no obstante, los rangos de variabilidad entre individuos permiten que esta gramínea comparta atributos similares entre poblaciones. Por ejemplo, en los contrastes por variable, la P1 y P0 no fueron diferentes ($p > 0.05$) en las variables HCR, pFP, DIT, LLH, ALH, ICC, y LRQ. Así mismo, la P3 no fue diferente ($p > 0.05$) de P0 en HCR, AP, DIT, AHB, ICC, RRQ, LRB, RRB, PDI y PSE. La P11 tampoco presentó diferencia ($p > 0.05$) con P0 en AF, AP, pFP, ICC, LRQ, RRQ, PDU, LRB, RRB y PDI. Por otro lado, en el análisis Clúster ninguna población se desliga del resto para diferenciarse categóricamente, lo cual limita aseverar que en el estado de Chihuahua exista suficiente variabilidad morfológica entre poblaciones de pasto rosado. Al respecto, Azcón-Bieto y Talón (2013) mencionan que si una misma especie no presenta suficiente variación genética y medioambiental inter e intra poblacional, se estará hablando de un mismo ecotipo. En un estudio de caracterización de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en el estado de Chihuahua, Morales *et al.* (2016) encontraron diversidad morfológica al evaluar 51 poblaciones con nueve descriptores morfológicos. Resultados similares se encontraron en los pastos gigante (*Leptochloa dubia*; Morales *et al.*, 2013) y

Cuadro 3. Contrastes ortogonales con 20 variables morfológicas cuantitativas, entre poblaciones (P) de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], del estado de Chihuahua

Contraste	Estadístico Lamda (L) de Wilks		
	Valor L	Valor F	Valor P
P0 vs P5	0.697	0.72	0.780
P0 vs P6	0.705	0.69	0.805
P0 vs P7	0.519	1.53	0.136
P0 vs P10	0.496	1.67	0.092
P2 vs P4	0.571	1.24	0.284
P2 vs P10	0.479	1.79	0.066
P4 vs P10	0.490	1.72	0.081
P5 vs P6	0.543	1.39	0.196
P5 vs P10	0.486	1.74	0.076
P6 vs P7	0.543	1.39	0.197
P8 vs P9	0.523	1.50	0.146
P8 vs P10	0.505	1.61	0.108
P10 vs P12	0.510	1.58	0.117

$P \leq 0.05$ indica diferencia estadística multivariada entre poblaciones.

tempranero (*Setaria macrostachya*; Morales *et al.*, 2015). Así mismo, en la región más seca del oeste de Canadá, Schellenberg *et al.* (2012) reportaron variabilidad fenotípica de pasto banderita en nueve poblaciones. Estos investigadores concluyen que al evaluar la variabilidad morfológica, se sientan las bases para seleccionar material genético con aptitud forrajera, resistencia a sequía, retención de suelo, entre otros atributos que pueden contribuir para restauración ecológica y productiva de áreas degradadas.

En la composición nutricional (Cuadro 4) se encontró que el total de fibras estructurales presentado en este estudio fue relativamente alto, comparado con los resultados de Bezabih *et al.* (2013). Esto investigadores reportan que en praderas semi-áridas de la sabana del Valle del Rift en Etiopía, en el mes de agosto esta especie presentó del 54.2 al 56.4 % de FDN. Posiblemente la diferencia de condiciones ambientales, nutrientes en el suelo y otros factores, fueron causa de la diferencia en el contenido de fibras, o bien, la expresión de un genotipo diferente. Sin embargo, la diferencia en contenido de fibras estructurales en la misma etapa fenológica entre Chihuahua y Sudáfrica fue al rededor del 22 %, la cual puede ser considerada alta. Se sabe que de los componentes de FDN, la HEM y CEL pueden ser digeridos por rumiantes y otros herbívoros, por el contrario la LIG es altamente indigestible (Van Soest, 1994; Sawatdeenarunat *et al.*, 2015). Existe información del contenido de lignina para algunos pastos nativos e introducidos en etapa madura (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2004). No obstante, para pasto rosado solo se hace alusión a que es más indigestible que otras especies por presentar niveles altos de lignina, más no se presentan datos

Cuadro 4. Composición química del pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], dividido en cuatro poblaciones (POB) del estado de Chihuahua

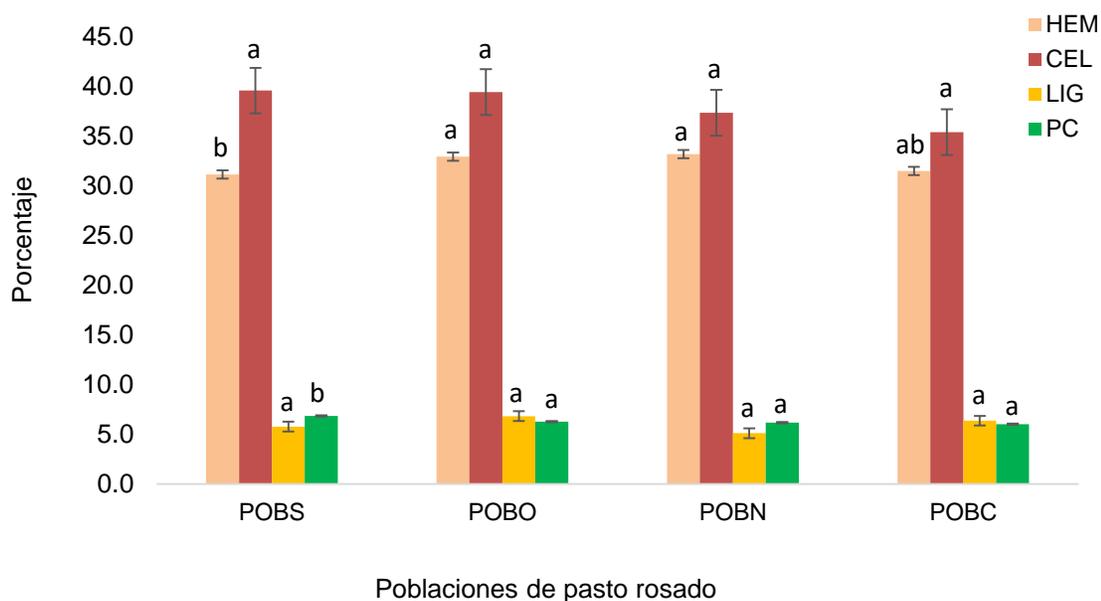
POB	% MS	% FDN	% FDA	% LDA	% CEN	% PC
POBO	92.94	79.18	46.26	6.84	8.19	6.29
POBN	93.04	75.63	42.45	5.12	8.46	6.18
POBS	92.90	76.48	45.35	5.79	8.10	6.86
POBC	92.90	73.24	41.76	6.39	8.60	6.02

POBO = población oeste, POBN = población norte, POBS = población sur, POBC = población centro. MS = materia seca, HUM = humedad, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, LDA = lignina detergente ácido, CEN = cenizas, PC = proteína cruda.

cuantitativos de este polímero. Los valores de LIG que presentaron las poblaciones de pasto rosado en este estudio, indican que el aporte es bajo comparado con otras especies nativas e introducidas (Ramírez *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2004; Garduño *et al.*, 2015). Las POBS y POBC no presentaron diferencia ($p > 0.05$) en HEM, así como tampoco la POBC fue diferente ($p > 0.05$) a las POBN y POBO. Sin embargo, la POBS tuvo mayor ($p < 0.05$) aporte de HEM que las POBN y POBO. Los componentes CEL y LIG no presentaron diferencia ($p > 0.05$) entre NPO. En PC, la población sur presentó mayor ($p < 0.05$) concentración que el resto de las NPO (Gráfica 1).

En general, el contenido de PC en etapa de madurez fue del 6.02 al 6.86 % en las poblaciones de pasto rosado. Otros autores mencionan que esta especie presenta valores de PC menores a lo reportado en este estudio. Melgoza *et al.* (2014) muestran valores de 4.0 a 6.0 % de PC durante la etapa de crecimiento. Flores *et al.* (2016) indican que en etapa de madurez aporta del 4.6 al 5.2 % de PC. Por otro lado, Bezabih *et al.* (2013) reportan que en pastizales de Etiopia, la PC en pasto rosado oscila entre 7.7 y 8.3 %, valores superiores a los encontrados en este estudio. El entorno medioambiental es un factor que influye en la composición nutricional de los pastos. Tomando en cuenta lo reportado por otros investigadores, se considera que el contenido de PC del pasto rosado en Chihuahua, va de regular a bueno.

Existen otras alternativas para el aprovechamiento de especies invasoras. En un estudio de caracterización del pasto invasor switchgrass (*Panicum virgatum*), Casler (2005) evaluó la variabilidad en holocelulosa, lignina y cenizas



Gráfica 1. Medias \pm error estándar y agrupamiento Tukey, de composición química nutricional en poblaciones silvestres de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], distribuido en el estado de Chihuahua. POBO = población oeste, POBN = población norte, POBS = población sur, POBC = población centro. HEM = hemicelulosa, CEL = celulosa, LIG = lignina, PC = proteína cruda.

en ecotipos de 33 sitios de Arlington, TX y Marshfield, Wi, USA, para determinar potencial de producción para biocombustibles. Además, otros investigadores realizaron un estudio con ratas y encontraron que en Sudamérica, el pasto rosado posee propiedades para combatir la diabetes (De Paula, 2005). Por lo anterior, puede explorarse la posibilidad de utilizar al pasto rosado con otros fines para controlarlo y disminuir su dispersión en los ecosistemas pastoriles del estado de Chihuahua, México.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La diversidad morfológica que presentó el pasto rosado no fue suficiente para inferir que existe variabilidad genética entre poblaciones del Estado de Chihuahua. Se determinó su composición nutricional y se encontró que su contenido de proteína cruda puede diferir de acuerdo a su localización. Por el aporte de proteína cruda y lignina que presentó el pasto rosado, se infiere que su valor forrajero puede ser clasificado de regular a bueno, sin embargo, se sugiere determinar su digestibilidad.

Se recomienda dar seguimiento a la caracterización de esta especie a nivel nacional, con el fin de facilitar su manejo para reducir o evitar su expansión. Al no presentar variabilidad, una alternativa es el mejoramiento genético a través de mutagénesis para desarrollar materiales de interés agronómico y ecológico.

LITERATURA CITADA

- Archer, A. W., C. G. Maples. 1987. Monte carlo simulation of selected binomial similarity coefficients (I): effect of number of variables. *PALAIOS*. 2:609-617.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2013. *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2ª Ed. McGraw-Hill. Barcelona España.
- Bezabih, M., W. F. Pellikaan, A. Tolera, N. A. Khan y W. H. Hendriks. 2013. Chemical composition and in vitro total gas and methane production of forage species from the Mid Rift Valley grasslands of Ethiopia. *Grass and Forage Science*. 69:635-643.
- Brutnell, P., J. L. Bennetzen y J. P. Vogel. 2015. *Brachypodium distachyon* and *Setaria viridis*: Model Genetic Systems for the Grasses. *Annual Review of Plant Biology*. 66:465-48.
- Casler, M. D. 2005. Ecotypic variation among switchgrass populations from the Northern USA. *Crop Sci*. 45:388-398.
- De Paula, A. C., R. V. Sousa, R. C. Figueiredo-Ribero y M. S. Buckeridge. 2005. Hypoglycemic activity of polysaccharide fractions containing β -glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb., Poaceae. *Braz J. Med. Biol. Res*. 38:885-893.
- Flores, E., M. Luna, C. Haubi, A. Díaz y J. J. Luna. 2016. Efecto del fuego en producción y calidad de zacate rosado en Aguascalientes. *Rev. Mex. Cienc. Agr*. 7:1271-1281.
- Garduño, V. S., R. Rodríguez, A. R. Quero, J. F. Enríquez, A. Hernández y A. Pérez. 2015. Evaluación morfológica, citológica y valor nutritivo de siete nuevos genotipos y un cultivar de pasto *Cenchrus ciliaris* L., tolerantes a frío. *Rev. Mex. Cienc. Agr*. 6:1679-1687.
- Goering, H. K. y P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 379*. USDA-ARS, Washinton, DC. 20 p.
- Guiot, G. J. D., S. Salomé, A. R. Quero, A. Carballo, J. Enríquez y S. Beltrán. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). *Guía Técnica Varietal*. SNICS-SAGARPA. México. 22 p.
- Häfliger, E. y H. Scholz. 1980. *Grass weeds I*. Ciba-Geigy Ltd. Basle, Switzerland. 142 p.
- Herrera, A. Y. y D. S. Pámanes. 2006. *Guía de pastos para el ganadero del Estado de Durango*. IPN- COCyTED, CIIDIR Unidad Durango. Durango, México.

- Herrera-Arrieta, Y. y A. Cortés-Ortiz. 2009. Diversidad de las gramíneas de Durango, México. *Polibotánica*. 28:49-68.
- Hitchcock, A. S. 1950. *Manual of the grasses of the United States*, 2a ed. Miscellaneous Publication. United States Department of Agriculture. Washington, DC.
- INEGI, 2015. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Anuario estadístico y geográfico de Chihuahua. Ed. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Aguascalientes, México.
- Melgoza, C. A., C. R. Morales, J. S. Sierra, M. H. Royo, G. Quintana y T. Lebgue. 2016. Manual práctico para la identificación de las principales plantas en los agostaderos de Chihuahua. 3a ed. Comunicación Creativa Taller Gráfico. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih.
- Melgoza, C. A., M. I. Valladares, R. Mata y C. Pinedo. 2014. Biología del pasto rosado *Melinis repens* e implicaciones para su aprovechamiento o control. Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 5:429-442.
- Morales, N. C. R., A. Melgoza, P. Jurado, M. Martínez y C. H. Avendaño. 2012. Caracterización fenotípica y molecular de poblaciones de zacate punta blanca (*Digitaria californica* (Benth.) Henr.). *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 3:171-184.
- Morales, N. C. R., C. H. Avendaño, A. Melgoza, K. Gil, A. R. Quero, P. Jurado y M. Martínez. 2016. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 7:455-469.
- Morales, N. C. R., C. H. Avendaño-Arrazate, A. Melgoza, M. Martínez y P. Jurado. 2015. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de zacate temprano [(*Setaria macrostachya*) Kunth]. *FYTON*. 84:190-200.
- Morales, N. C. R., O. Rivero-Hernández, C. A. Melgoza, G. P. Jurado y M. Martínez. 2013. Caracterización morfológica y molecular de *Leptochloa dubia* (Poaceae) en Chihuahua, México. *Polibotánica*. 36:79-94.
- Quero, C. A. R., J. D. Guiot, S. Salinas, J. F. Enríquez, S. Beltrán, M. R. Tovar y B. Cruz. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto banderita [*Bouteloua curtipendula* (Michx.)Torr.]. Guía Técnica Varietal. SNICS-SAGARPA. México. 23 p.
- Ramírez, L. R. G., M. A. Enríquez y G. F. Lozano. 2001. Valor nutricional y degradabilidad ruminal del zacate buffel y nueve zacates nativos del NE de México. *CIENCIA UANL*. 4:314-321.
- Ramírez, R. G., G. F. W. Haenlein, C. G. García-Castillo y M. A. Núñez-González. 2004. Protein, lignin and mineral contents and in situ dry matter digestibility

- of native Mexican grasses consumed by range goats. *Small Ruminant Research*. 52:261-269.
- SAS, Institute Inc. 2006. *Statistical Analysis System 9.1.3 User's guide*. Cary, NC, USA.
- Sawatdeenarunat, C., K. C. Surendraa, D. Takaraa, H. Oechsnerb y S. K. Khanal. 2015. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*. 178:178-186.
- Schellenberg, M. P., B. Biligetu, G. J. McLeod y Z. Wang. 2012. Phenotypic variation of side-oats grama grass [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] collections from the Canadian prairie. *Can J PI Sci*. 92:1043-1048.
- Silva C., C. Snak, A. S. Schnadelbach, C. van den Berg y R. P Oliveira. 2015. Phylogenetic relationships of *Echinolaena* and *Ichnanthus* within *Panicoideae* (*Poaceae*) reveal two new genera of tropical grasses. *Mol. Phylogenet. Evol.* 93:212-233.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd Ed. Comstock, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- Vega-Dienstmaier J. M. y J. M Arévalo-Flores. 2014. Clasificación mediante análisis de conglomerados: un método relevante para la psiquiatría. *Rev. Neuropsiquiatr.* 77:31-39.
- Vicentini, A., J. C. Barber, S. A. Aliscioni, L. M.Giussani y E. A. Kellogg. 2008. The age of the grasses and clusters of origins of C4 photosynthesis. *Glob Chang Biol*. 14:2963-2977.

**ESTUDIO 2. DOSIS ÓPTIMA DE RADIACIÓN GAMMA PARA INDUCCIÓN DE
MUTAGÉNESIS EN PASTO ROSADO [*Melinis repens* (Willd.) Ziska]**

Corrales-Lerma Raúl¹, Avendaño-Arrazate Carlos Hugo², *Morales-Nieto Carlos
Raúl¹, Santellano-Estrada Eduardo¹, Villarreal-Guerrero Federico¹, Melgoza-
Castillo Alicia ¹, Álvarez-Holguín Alan¹ y Gómez-Simuta, Yaudiel³.

¹Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Periférico Francisco R. Almada kilómetro 1. Código postal 31000. Chihuahua, Chihuahua. México. rulo.corr.ler@gmail.com tel. 614-231-1010, cnieto@uach.mx tel. 614-132-0298, esantellano@gmail.com tel. 614-169-6703, fvillarreal@uach.mx tel. 614-1036853. amelgoza@uach.mx tel. 614-142-1391, alvarezalan193@gmail.com tel. 614-178-6033.

²Instituto del Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Campo Experimental Rosario Izapa, Carretera Tapachula-Cacahoatán kilómetro 18. Código postal 30870. Tuxtla Chico, Chiapas. México. avendano.carlos@inifap.gob.mx tel. 962-121-0383.

³Departamento de Irradiación; complejo MOSCAMED-MOSCAFRUT de SENASICA, Metapa de Domínguez, Chiapas. yaudiel.gomez@iicamoscafrut.org.mx tel. 926-115-1594.

*Autor de correspondencia; Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Periférico Francisco R. Almada kilómetro 1. Código postal 31000. Chihuahua, Chihuahua. México. cnieto@uach.mx tel. 614-132-0298.

RESUMEN

La radiación gamma puede ser utilizada para conocer el rango de radiosensibilidad (RRS) en pastos con fines de mejoramiento genético por mutagénesis. El pasto rosado es una especie invasora que puede ser mejorada en valor nutricional u otras características. El objetivo fue determinar la dosis óptima de radiación gamma en semilla de pasto rosado, con base en la dosis letal media (DL_{50}) y reducción media de crecimiento (GR_{50}) para inducir mutaciones efectivas. El estudio se realizó en campo, laboratorio e invernadero. Los datos fueron analizados con Análisis de Tendencia y ANDEVA con la prueba Dunnett. De acuerdo a la media ponderada de las variables incluidas en LD_{50} y GR_{50} , la dosis óptima se estimó a los 304 Gy. Los resultados de este estudio permiten conocer el RRS para la aplicación de dosis óptima de radiación gamma con Co^{60} , que pueda inducir características futuras de interés económico y ecológico en pasto rosado.

Palabras clave: radiosensibilidad, variabilidad, mejoramiento de pastos.

ABSTRACT

OPTIMAL DOSE OF GAMMA RADIATION TO MUTAGENESIS INDUCTION IN NATAL GRASS [*Melinis repens* (Willd.) Ziska]

Gamma radiation can be used to know radiosensitivity range (RSR) in grasses for the purpose of genetic improvement by mutagenesis. Natal grass is an invasive species that can be enhanced in forage value and other characteristics. The objective was to determine the optimal gamma radiation dose over the natal grass seed, based on the mean lethal dose (LD₅₀) and mean growth reduction (GR₅₀) to induce effective mutations. The study was divided into field, laboratory and greenhouse stages. Data were analyzed with Trend Analysis and ANOVA with the Dunnett test. According to weighted means in LD₅₀ and GR₅₀ of each of the variables, the optimal dose was estimated at 304 Gy. The results allow knowing the RSR for application of gamma radiation of ⁶⁰Co that can induce characteristics of economic and ecological interest in natal grass.

Keywords: radiosensitivity, variability, grasses breeding.

INTRODUCCIÓN

El uso de radiación gamma permite generar variabilidad intraespecífica y determinar el rango de radiosensibilidad (RRS) para el mejoramiento de plantas a través de mutagénesis. Las variaciones genéticas definen el potencial para evolucionar ante cambios ambientales y perpetuar la especie; en consecuencia, la generación de variabilidad es fundamental para el mejoramiento genético (Avendaño *et al.*, 2012; Rosenberg *et al.*, 2012). El Co⁶⁰ es un isótopo radiactivo con alta capacidad ionizante que ha sido utilizado en mejoramiento genético de diferentes cultivos para inducir mutaciones (Krishna *et al.*, 1984a; Ángeles-Espino *et al.*, 2013).

El pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka] es una gramínea nativa de Sudáfrica, considerada como una de las especies invasoras más agresivas en México. Se ha reportado que esta especie fue introducida como planta ornamental a los Estados Unidos de Norte América por Florida entre 1870 y 1900 (David y Menges, 2011; Stokes *et al.*, 2011). Debido a su capacidad de dispersión y establecimiento, esta gramínea ha logrado desplazar especies nativas en diferentes ecosistemas del Desierto Chihuahuense (Díaz *et al.*, 2012; Melgoza *et al.*, 2014). Además, por su alto contenido en fibras, esta especie de baja digestibilidad y poco consumida por el ganado, lo cual contribuye a su capacidad invasora (Valladares *et al.*, 2007). El pasto rosado puede ser candidato para mejora su valor nutritivo y a la vez, aprovechar su capacidad de establecimiento para control de erosión y rehabilitación de áreas degradadas. No obstante, en especies exóticas es difícil encontrar variabilidad genética. Para el caso del pasto rosado, el tiempo de su establecimiento en América es corto para efectos

evolutivos (Nobel, 2009). En este sentido, la mutagénesis puede ser una alternativa viable para hacer mejoramiento genético en esta especie, debido a que ésta técnica es capaz de inducir variabilidad mediante radiación gamma.

Al exponer un organismo a radiación ionizante y con dosis bajas, los impactos sobre la estructura celular o del ADN son mínimos, mientras que con altas dosis, el genoma sufre múltiples impactos y puede ser causal de muerte (Songsri *et al.*, 2011; Thole *et al.*, 2012; Olasupo *et al.*, 2016). Por esta razón, el primer paso para inducir mutagénesis efectiva con radiaciones ionizantes, es determinar la dosis óptima de radiación a través de curvas de radiosensibilidad en diferentes variables. En semillas, la dosis letal media (DL_{50}) se presenta con la concentración de radiación absorbida, con lo cual se obtiene una sobrevivencia alrededor del 50 % de germinación de la población expuesta. Morela *et al.* (2002) señalaron que en esta proporción existe mayor frecuencia de mutaciones útiles para programas de mejoramiento genético. En el mismo sentido, otros investigadores coinciden que a través de radiación gamma en distintas especies vegetales, se puede determinar el RRS como punto de partida para realizar mejoramiento genético por mutagénesis (Lajonchere *et al.*, 1995; Songsri *et al.*, 2011; Ángeles-Espino, 2013). Por otro lado, diversos estudios mencionan que otro parámetro con alta probabilidad para encontrar mutaciones efectivas, es el punto bajo la curva donde el crecimiento o desarrollo celular se reduce al 50 % (GR_{50} ; Akgüm y Tosun, 2004; Khalil *et al.*, 2014). En este sentido, tanto la DL_{50} como la GR_{50} son parámetros conocidos como RRS efectivos para realizar mutagénesis inducida. En ambos casos se menciona que con dosis de radiación gamma inferiores al 50 % de la curva, la modificación en la estructura del genoma

es mínima o de bajo impacto. Por el contrario, si la radiación supera la media en la curva, la estructura celular o ADN sufren mayor impacto de acuerdo al incremento (Songsri *et al.*, 2011; Thole *et al.*, 2012). Para el caso específico del pasto rosado se desconocen trabajos para inducir mutagénesis con radiación gamma, lo cual puede ser una alternativa para mejorar su valor nutricional, control de erosión de suelo, control de dispersión, entre otros beneficios. Por lo anterior, el objetivo fue determinar la dosis óptima de radiación gamma en semilla de pasto rosado, con base en la dosis letal media (DL_{50}) y reducción media de crecimiento (GR_{50}) para inducir mutaciones efectivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La duración del estudio fue de un año y se dividió en las siguientes etapas: recolección y análisis de semilla, radiación de semilla, prueba de germinación y desarrollo de plantas. En octubre de 2014 se recolectó semilla silvestre de pasto rosado en los municipios Belisario Domínguez, Chihuahua y General Ángel Trías del Estado de Chihuahua. La semilla fue colocada en bolsas de papel y almacenada; seis meses después se realizó un análisis de calidad de la semilla mediante germinación y pureza (Morales *et al.* 2012), el cual presentó un 35 % de semilla pura viable con el 4 % de humedad.

Para el proceso de irradiación la semilla se trasladó al Complejo MOSCAMED de SENASICA-SAGARPA en Metapa de Domínguez, Chiapas, México, en colaboración con el Campo Experimental Rosario Izapa, Chiapas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Las dosis se determinaron mediante el sistema de dosimetría Gafchromic y una cámara de ionización RADCAL modelo Accudose. El irradiador fue un equipo panorámico Gamma Beam 127 MDS Nordion con fuente de almacenamiento de 50 g de Co^{60} en seco. Se evaluaron ocho dosis de radiación sobre la semilla: 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 Gray (Gy) y 0 (T-0; tratamiento control). Después de irradiada la semilla se realizó una prueba de germinación estándar y crecimiento de plántula, la cual se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de Zootecnia y Ecología (FZyE) de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). El desarrollo de plantas se realizó bajo condiciones de invernadero en las instalaciones de ésta institución.

Para la prueba de germinación se utilizaron cajas Petri provistas de algodón y papel filtro, donde fueron colocadas 50 semillas por caja con cuatro repeticiones por dosis. Las cajas Petri se colocaron en una incubadora Precision Scientific modelo 6M a temperatura de 28 ± 2 °C y humedad permanente. La prueba se realizó bajo un diseño completamente al azar con una duración de 15 días (d). Las variables evaluadas en esta etapa fueron: porcentaje de germinación (% GE), la cual se evaluó mediante conteos diarios. Se consideró semilla germinada cuando la plúmula o radícula fue igual o mayor a 5.0 mm de longitud. El índice de velocidad de germinación (IVge) se estimó con base en la ecuación utilizada por González-Zertuche y Orozco-Segovia (1996), con modificaciones hechas a la fórmula en este estudio:

$$IVge = \frac{\sum \frac{SG}{t_j}}{DG},$$

donde: IVge = índice de velocidad de germinación; SG = número de semillas germinadas; t_j = día de registro de semillas germinadas. DG = total de días que duró la germinación, desde el momento de la siembra hasta el último día que se registró la última semilla germinada. Para la medición de LR y LP se dejaron crecer 12 plántulas por dosis de radiación durante 14 días con tres individuos por caja Petri.

En la evaluación de invernadero se utilizaron las mismas dosis de semilla irradiada que en la prueba de germinación. Esta etapa se condujo bajo un diseño experimental en bloques completos al azar con 10 repeticiones por tratamiento. El criterio de bloqueo se tomó por la orientación y exposición a radiación solar de las plantas en el invernadero. Se sembraron 20 semillas de cada dosis por

maceta para asegurar emergencia y establecimiento; cada repetición consistió en una planta por maceta establecida 21 d después de la siembra. Las macetas fueron bolsas de polietileno negro de 25 cm de altura por 10 cm de diámetro, cada una con ocho perforaciones de 0.5 cm² en la parte inferior. Las bolsas se llenaron a 21-22 cm con suelo franco-arenoso de origen aluvial. Se suministraron riegos periódicos a capacidad de campo en la maceta durante nueve semanas que duró la prueba (verano de 2015).

Las variables evaluadas en esta prueba fueron: Altura de forraje (AF), en la cual se midió el follaje de la base de la corona hasta la lígula de la hoja bandera, hasta el final de la novena semana después de la emergencia. Altura de planta (AP), se midió la planta de la base de la corona hasta el ápice más alto de la inflorescencia en etapa de antesis temprana, al término de la semana nueve después de la emergencia. Largo de hoja (LH), al finalizar la semana cuatro después de la emergencia, se inició la medición de una hoja al azar de la parte central de la planta, lo cual se realizó durante seis semanas consecutivas. El índice de concentración de clorofila (ICC) se determinó con un medidor CCM-200® en las mismas hojas seleccionadas para LH y AH.

En invernadero se monitorearon las variables ambientales: temperatura (T°), humedad relativa del aire (HR) y radiación solar (RdS) registradas de junio a septiembre de 2015. Para T° y HR se utilizaron sondas HMP60 y Vaisala Inc., Woburn, MA, USA, respectivamente. Cada sensor fue sombreado y aspirado para lograr registros más precisos. Adicionalmente, se instaló un sensor de radiación de onda corta LI-200X, Li-Cor, Lincoln, NE, USA. Estas variables fueron registradas cada hora en un sistema de adquisición y almacenamiento de datos

DataLogger CR1000, Logan, UT, USA. El año 2015 la T° media fue de 28 °C con una máxima de 48 °C (junio) y una mínima de 14 °C (septiembre). La media general para la HR fue de 26 % con un valor mínimo de 15 % en junio y un máximo del 47 % en septiembre. La máxima RdS se presentó en julio con 760 W m⁻² y el mes de agosto registró la menor radiación con 640 W m⁻².

Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.1.3 (2006). Se realizó análisis de tendencia para cada variable y con base en la ecuación de regresión se determinó la DL₅₀ para % GE. Con las ecuaciones resultantes de IVge, LP, LR, AF, AP, LH e ICC, se determinó GR₅₀ para cada una de estas variables. La dosis óptima de radiación gamma para mutaciones efectivas se calculó con medias ponderadas. Los valores obtenidos se ponderaron de acuerdo al peso de cada variable; 60 % para DL₅₀ en % GE y 40 % para GR₅₀, donde el 10 % se asignó a IVge, 5 % a LP, 5 % a LR, 5 % a LH, 5 % a ICC, 5 % a AF y 5 % para AP. Se incluyó Análisis de Varianza con comparación de medias. Se utilizó la prueba Dunnett para diferenciar el efecto de la dosis de radiación en cada variable del T-0. El factor de influencia fue la dosis de radiación y el nivel de significancia fue de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

La Figura 2 presenta el comportamiento de las variables evaluadas en etapa de germinación. Para % GE se encontró efecto por dosis de radiación ($p < 0.001$). Los tratamientos 10, 50 y 100 Gy no presentaron diferencia ($p > 0.05$) con T-0 en esta variable. Las dosis de radiación 150, 200, 250, 300 y 350 Gy, presentaron menor ($p < 0.001$) % GE que T-0. Los resultados muestran una tendencia lineal descendente ($p < 0.001$). De acuerdo a la ecuación de regresión la DL_{50} en % GE se presentó a los 277 Gy (Figura 2 a).

El IVge presentó efecto por radiación ($p < 0.001$). Las dosis 10, 50, 100, 150 y 200 Gy no presentaron diferencia ($p > 0.05$) con T-0. En las dosis 250, 300 y 350 Gy, la semilla fue más lenta ($p < 0.001$) para germinar que T-0. Esta variable mostró una tendencia cuadrática y la ecuación de regresión presentó la GR_{50} a los 311 Gy (Figura 2b). En LP se encontró efecto ($p < 0.001$) por nivel de radiación. La LP de semilla germinada de los tratamientos 100 y 150 Gy fue mayor ($p < 0.05$) al T-0. Es importante señalar que con estas dosis de radiación gamma, se obtuvo una estimulación en el desarrollo de plúmula, ya que presentó mayor ($p < 0.001$) tamaño que el resto de los tratamientos. No obstante, de 200 a 350 Gy la LP disminuyó categóricamente y presentó menor ($p < 0.001$) tamaño que en T-0. Esta variable mostró un comportamiento cuadrático ($p < 0.001$) y de acuerdo a la ecuación de regresión la GR_{50} se ubicó a los 275 Gy. Aunque en el presente estudio LP aumentó con dosis bajas de radiación, el comportamiento final de esta variable tendió a disminuir su tamaño con dosis altas de radiación (Figura 2c).

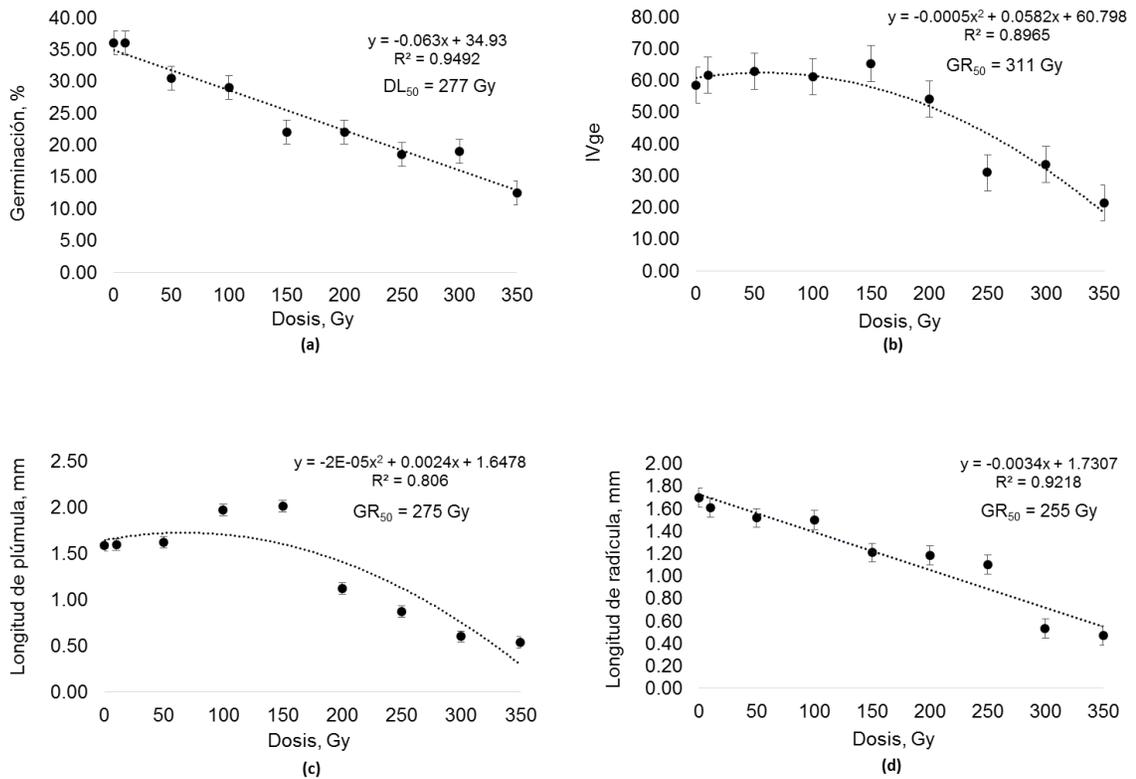


Figura 2. Medias \pm error estándar y curvas de radiosensibilidad (DL_{50} y GR_{50}) para variables en etapa de germinación y plántula de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], con semilla expuesta a diferentes dosis de radiación gamma con cobalto 60. DL_{50} = dosis letal media, GR_{50} = reducción media de crecimiento, Gy = Gray, IVge = índice de velocidad de germinación, escala 0-100.

Para LR se presentó efecto ($p < 0.001$) por nivel de radiación gamma. De los 150 a los 350 Gy esta variable fue menor ($p < 0.05$) que en T-0. La LR mostró una tendencia lineal descendente ($p < 0.001$) y la ecuación indicó la GR_{50} a los 255 Gy (Figura 2d).

La Figura 3 muestra el comportamiento de las variables morfológicas de las plantas de semilla irradiada con Co^{60} evaluadas en invernadero. En AF se encontró efecto por dosis de radiación ($p < 0.001$) con tendencia cuadrática ($p < 0.001$). Con las dosis de 100 y 150 Gy el forraje fue más alto que el T-0. A los 200 Gy esta variable comenzó a disminuir, pero fue hasta 350 Gy que presentó menor ($p < 0.001$) tamaño que T-0. En el experimento no se encontró la GR_{50} , sin embargo, la ecuación indica la GR_{50} para AF a los 373 Gy (Figura 3a). Para AP se encontró efecto ($p < 0.001$) por radiación en la semilla. Las plantas de 350 Gy presentaron menor ($p < 0.001$) altura que el T-0. El resto de las dosis no presentó diferencia estadística con T-0 ($p > 0.05$). Aunque en el experimento no se encontró la GR_{50} , la AP mostró una tendencia cuadrática ($p < 0.001$) y la ecuación señala la GR_{50} a los 414 Gy (Figura 3b). Para LH se encontró efecto ($p < 0.001$) por semilla irradiada. Las hojas de las plantas de las dosis 250, 300 y 350 Gy fueron más cortas ($p < 0.001$) que las de T-0. Los tratamientos de 10, 50, 100 y 150 Gy no presentaron diferencias ($p > 0.05$) con T-0. La tendencia en esta variable fue cuadrática ($p < 0.001$). No obstante, en el experimento no se presentó la GR_{50} , pero la ecuación estimó la GR_{50} a los 467 Gy (Figura 3c).

La irradiación de semilla presentó efecto ($p < 0.001$) en el ICC de las plantas con una tendencia cuadrática ($p < 0.001$). En las dosis de 100 y 150 Gy se registró

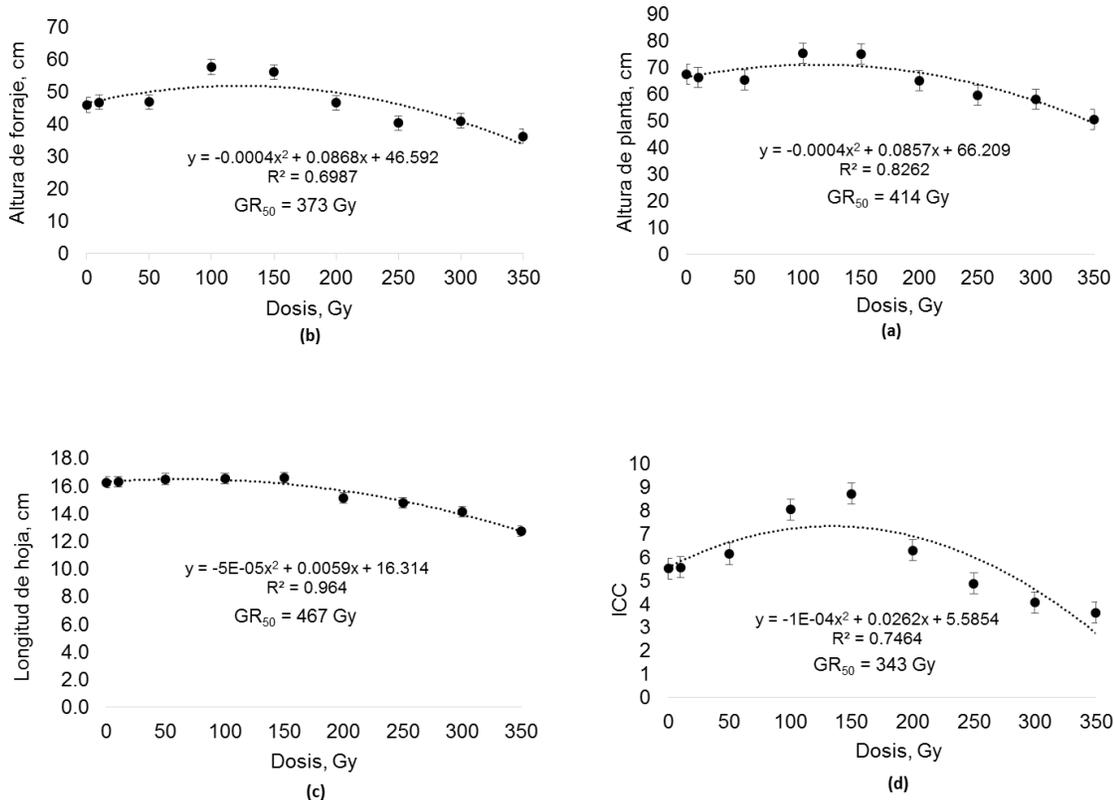


Figura 3. Medias \pm error estándar y curvas de radiosensibilidad (GR_{50}) para variables morfológicas e índice de concentración de clorofila (ICC) de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], en etapa de planta; producidas de semilla expuesta a diferentes dosis de radiación gamma con cobalto 60. GR_{50} = reducción media de crecimiento, Gray= Gy.

mayor ($p < 0.001$) ICC que en T-0. Las plantas de 350 Gy registraron menor ($p < 0.001$) ICC que las de T-0. En esta variable no se obtuvo la GR_{50} con las dosis utilizadas en el experimento, sin embargo, la ecuación predice que la GR_{50} puede ser alcanzada a los 343 Gy (Figura 3d).

DISCUSIÓN

Al incrementar la dosis de radiación gamma, los efectos se manifestaron con un decremento en el % GE. La DL₅₀ en esta variable coincide con resultados de Ariramana *et al.* (2014), quienes en una prueba de germinación en semilla de frijol de palo (*Cajanus cajan*), leguminosa utilizada en el consumo humano que fue irradiada con Co⁶⁰, encontraron la DL₅₀ a 250 Gy en una prueba que duró 15 d. Bharathi *et al.* (2013) al tratar una solanácea medicinal conocida como oroval o ashwagandha (*Withania somnifera*), encontraron la DL₅₀ a los 250 Gy para % GE a los 15 d. Lo anterior puede ser un indicador para que semillas con características semejantes a estas especies, sean sometidas a estas dosis de radiación gamma. No obstante, Harding *et al.* (2012) al exponer 13 variedades de arroz (*Oryza sativa*) entre 0 y 800 Gy de radiación gamma con Co⁶⁰, no encontraron diferencia en % GE. Así mismo, Melki y Marouani (2010) evaluaron semilla de trigo (*Triticum aestivum*) irradiada con Co⁶⁰ y no encontraron diferencias en % GE con dosis de 0, 10, 20 y 30 Gy. Con aplicación de otras fuentes de radiación como ultravioleta de onda corta (UV-C) y rayos X (RX), se intentó encontrar la DL₅₀ en % GE para trigo, girasol (*Helianthus annuus*), soya (*Glycine max*) y pasto buffel (*Pennisetum ciliare*), con dosis entre 0 y 800 Gy (Foroughbakhch-Pournavab, 2015), sin embargo, la germinación de semilla en estas especies no fue afectada. En semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum*) Ramírez *et al.* (2006) encontraron con RX la DL₅₀ a 700 Gy para % GE. Algunos estudios sugieren que la DL₅₀ es el primer paso para el mejoramiento vegetal por mutagénesis, ya que determina el rango más efectivo de mutaciones (Lajonchere *et al.*, 1995; Morela *et al.*, 2002; Songsri *et al.*, 2011; Ángeles-Espino, 2013). Lo

anterior, puede ser un indicador para que semillas ortodoxas con características similares a estas especies, sean consideradas para someterse a este rango de radiación gamma de Co⁶⁰.

Con respecto al IVge, estudios relacionados con esta variable reportan que en semilla de soya, de la Fé (2000) aplicó dosis entre 0 y 480 Gy con radiación gamma de Co⁶⁰ y reportó una tendencia cuadrática, ya que a los 280 Gy se obtuvo la mayor velocidad de germinación entre el tercer y noveno día. En otro estudio, Melki y Marouani (2010) midieron velocidad de germinación en trigo con semilla irradiada con Co⁶⁰ en dosis de 0, 10, 20 y 30 Gy, sin obtener diferencias entre tratamientos.

El comportamiento decreciente en LR de este estudio fue similar a lo reportado por Ambavane *et al.* (2015), quienes irradiaron semilla de finger millet (*Eleusine coracana*) con Co⁶⁰ y encontraron que LP y LR disminuyeron a medida que la dosis de radiación aumentó. Para ambas variables estos investigadores reportaron la GR₅₀ a los 500 Gy. Rafiuddin *et al.* (2013) encontraron un efecto similar al irradiar semilla de tres variedades de maíz con Co⁶⁰. En LP encontraron la DL₅₀ a los 400 Gy para las variedades Bisma y Sukmaruga, mientras que en la variedad Lamuru la DL₅₀ fue a los 500 Gy. En LR, estos mismos investigadores encontraron la GR₅₀ a los 300 Gy en las tres variedades. El efecto de radiación en la expresión de LP y LR pudo deberse a que usualmente las radiaciones provocan desestabilidad en el desarrollo y división celular. (Thole *et al.*, 2012; Olasupo *et al.*, 2016). De acuerdo a la intensidad radioactiva, en el presente estudio la expresión entre LP y LR fue diferente.

En las variables morfológicas evaluadas en invernadero no se encontró la GR₅₀. No obstante, la radiación provocó diferencias notables. Se esperaría que a medida que la dosis de irradiación aumentara, estas variables disminuyeran su valor, sin embargo, las dosis de 100 y 150 Gy parecen presentar una radio estimulación en incremento, con respecto a las plantas de semilla sin irradiar. Por otro lado, se presentó un decremento por arriba de los 200 Gy. En estudios relacionados Scheer *et al.* (2011) irradiaron semilla en dos variedades de arroz entre 0 y 200 Gy con Co⁶⁰ y no encontraron la GR₅₀. Sin embargo, reportaron que la variedad BRS Fronteira presentó un comportamiento cuadrático y que la mayor altura de planta fue con dosis de 100 Gy. Mientras que la altura de planta en la variedad BRS Querencia presentó un comportamiento lineal descendente. Lemus *et al.* (2002) irradiaron semilla en dos variedades de frijol caupí (TC 9-6 y A-4) con dosis de 0 a 750 Gy con Co⁶⁰ y reportaron que de 0 a 300 Gy el follaje no se vio afectado, sin embargo, a partir de 400 Gy el número de hojas por planta disminuyó significativamente. Además, en altura de planta encontraron que a partir 300 Gy fue donde ambas variedades disminuyeron significativamente.

El ICC se incrementó con las dosis de 100 y 150 Gy, no obstante, al aumentar la intensidad de radiación gamma en semilla de pasto rosado el ICC disminuyó a partir de los 200 Gy. Aun así, 350 Gy no fueron suficientes para encontrar la DL₅₀. Al respecto, Krishna *et al.* (1984a) irradiaron semilla de pasto rhodes (*Chloris gayana*) con Co⁶⁰ en dosis de 0 a 900 Gy y reportaron que, al aumentar la intensidad de rayos gamma, se incrementó la cantidad de mutaciones en el espectro de la clorofila (albina, xantha, chlorina, viridis, tigrina, striata, albo-xantha y albo-viridis).

La radiosensibilidad es un factor que provoca cambios metabólicos capaces de promover o inhibir reguladores de crecimiento a nivel celular, dependiendo de la cantidad de radiación nuclear (Krishna *et al.*, 1984b; Olasupo *et al.*, 2016). En el presente estudio las variables % GE y LR, tuvieron un comportamiento decreciente en sus valores a medida que se aumentó la dosis de radiación en la semilla. El comportamiento de las variables IVge, LP, AF, AP, LH e ICC coincidió en la tendencia y mostraron una conducta semejante. Cabe resaltar que, en LP, AF e ICC la semilla irradiada con 100 y 150 Gy aumentó significativamente su magnitud y se diferenció del resto de los tratamientos. Este y otros estudios relacionados muestran que el efecto de la radiación gamma en la expresión de ciertas características, depende de la intensidad de radiación gamma, especie y variedad.

Al considerar las curvas de tendencia de cada una de las variables que determinaron DL_{50} y GR_{50} , el resultado en la fórmula de medias ponderadas sugiere 304 Gy de radiación gamma como dosis óptima para inducir mutaciones efectivas en pasto rosado. Cabe mencionar que, aunque en las dosis de 100 y 150 Gy se presentó aumento en ciertas características, no significa que la expresión en la primera generación de mutantes (M1) de pasto rosado sean las que el investigador busca. Por ejemplo, para el aprovechamiento del forraje por el ganado o fauna silvestre, el aumento en biomasa aérea para pasto rosado pudiera ser una característica no deseable, si la materia seca (MS) presenta un alto contenido de lignina.

Con los resultados de este estudio se propone el RRS con radiación gamma de Co^{60} alrededor de los 300 Gy, como dosis óptima para inducir mutaciones efectivas a futuro.

CONCLUSIONES

Se determinó la radiosensibilidad del pasto rosado en ocho variables a través de radiación gamma con Co^{60} en semilla. Los resultados de este estudio sugieren un rango de radiación en semilla de esta especie para buscar mutaciones efectivas. Lo anterior, se refuerza con la variabilidad que mostraron las variables evaluadas en el rango de radiación, considerado en este estudio.

Estos resultados permiten conocer la radiosensibilidad del pasto rosado presente en poblaciones silvestres del estado de Chihuahua, para facilitar la inducción de nuevo material genético de interés agronómico y ecológico.

LITERATURA CITADA

- Akgüm, I. y M. Tosun. 2004. Agricultural and cytological characteristics of M1 perennial rye (*Secale montanum* Guss.) as affected by the application of different doses of gamma rays. Pak. J. Biol. Sci. 7:827-833.
- Ambavane, A. R., S. V. Sawardekar, S. A. Sawantdesai y N. B. Gokhale. 2015. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). J. Radiat. Res. Appl. Sci. 8:120-125.
- Ángeles-Espino, A., A. J. Valencia-Botín, G. Virgen-Calleros, C. Ramírez-Serrano, L. Paredes-Gutiérrez y S. Hurtado-De la Peña. 2013. Determinación de la dosis letal (DL₅₀) con Co⁶⁰ en vitroplántulas de *Agave tequilana* var. Azul. Rev. Fitotec. Mex. 36:381-386.
- Ariramana, M., S. Gnanamurthy, D. Dhanavelb, T. Bharathi y S. Murugan. 2014. Mutagenic effect on seed germination, seedling growth and seedling survival of Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). International Letters of Natural Sciences. 21:41-49.
- Avendaño, A. C. H., J. Cadena-Íñiguez, M. L. Arévalo, V. M. Cisneros, J. F. Aguirre, E del C. Moreno, M. Cortés, C. R. Castillo y P. Ramírez. 2012. Variación genética en el complejo infraespecífico de chayote evaluada mediante sistemas isoenzimáticos. Pesq. Agropec. Bras. Brasília. 47:244-252.
- Bharathi, T., S. Gnanamurthy, D. Dhanavel, S. Murugan y M. Ariraman. 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.
- David, A. S. y E. S. Menges. 2011. Microhabitat preference constrains invasive spread of non-native natal grass (*Melinis repens*). Biol Invasions. 13:2309-2322.
- de la Fé, C., M. Romero, R. Ortiz y M. Ponce. 2000. Radiosensibilidad de semillas de soya a los rayos gamma ⁶⁰Co. Cultivos Tropicales. 21:43-47.
- Díaz, A., E. Flores, de A. Luna, J. J. Luna, J. T. Frías y V. Olalde. 2012. Biomasa aérea, cantidad y calidad de semilla de *Melinis repens* (Willd.) Zizka, en Aguascalientes, México. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 3:33-47.
- Foroughbakhch-Pournavab, R., E. Bacópulos-Mejía y A. Benavides-Mendoza. 2015. Efecto de la irradiación con UV-C en la germinación y vigor de tres especies vegetales. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. 2:129-137.

- González-Zertuche, L. y A. Orozco-Segovia. 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: Manfreda Brachystachya. Bol. Soc. Bot. México 58:15-30.
- Harding, S. S., S. D. Johnson, D. R. Taylor, C. A. Dixon y M. Y. Turay. 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., R. Zamir y N. Ahmad. 2014. Effect of different propagation techniques and gamma irradiation on major steviol glycoside's content in Stevia rebaudiana. The J. Anim. Plant. Sci. 24:1743-1751.
- Krishna, G., G. Shivashankar y J. Nath. 1984a. Mutagenic response of rhodes grass (*Chloris gayana* KUNTH.) to gamma rays. II. Studies on second (M₂) generation parameters. Euphytica 33:517-524.
- Krishna, G., G. Shivashankar y J. Nath. 1984b. Mutagenic response of rhodes grass (*Chloris gayana* KUNTH.) to gamma rays. Environmental and Experimental Botany. 24:197-205.
- Lajonchere, G., A. R. Mesa, M. Prieto y E. Sánchez. 1995. Curva de radiosensibilidad con ⁶⁰Co en guinea (*Panicum maximum* Jacq.) cv. K-249. Revista Pastos y Forrajes. 1:35-42.
- Lemus, Y., J. F. Méndez-Natera, J. F. Cedeño y V. Otahola-Gómez. 2002. Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) a radiaciones gamma. Revista UDO Agrícola. 2:22-28.
- Melgoza, C. A., M. I. Valladares, R. Mata y C. Pinedo. 2014. Biología del pasto rosado *Melinis repens* e implicaciones para su aprovechamiento o control. Revisión. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 5:429-442.
- Melki, M. y A. Marouani. 2010. Effects of gamma rays irradiation on seed germination and growth of hard wheat. Environ. Chem. Lett. 8:307-310.
- Morales, N. C. R., Q. J. F. Enríquez, A. J. F. Villanueva, C. F., Herrera, C. A. R. Quero, B. J. Becerra, G. R. A. Sánchez y G. P. Jurado. 2012. Manual para el establecimiento y manejo de semilleros de especies forrajeras en México. SAGARPA-INIFAP. Folleto técnico. 21:1-76.
- Morela, F., V. González, S. Castroni, E. Díaz y L. Castro. 2002. Efecto de la radiación gamma sobre la diferenciación de plantas de caña de azúcar a partir de callos. Agron. Trop. 52:311-323.
- Nobel, P. S. 2009. Physicochemical and environmental plant physiology (4th ed.) San Diego, CA. Elsevier Academic Press.

- Olasupo, F. O., C. O. Ilori, B. P. Forster y S. Bado. 2016. Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Am. J. Plant. Sci.* 7:339-351.
- Rafiuddin, F., D. Dahlan, Y. Musa, B. Rasyid y M. B. Farid. 2013. Germination viability of maize M1 seeds (*Zea mays* L.) after gamma ray irradiation. *International Journal of Agriculture Systems.* 1:112-118.
- Ramírez, R., L. M. González, Y. Camejo, N. Zaldívar y Y. Fernández. 2006. Estudio de radiosensibilidad y selección del rango de dosis estimulantes de rayos X en cuatro variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales.* 27:63-67.
- Rosenberg, S. M., C. Shee, R. L. Frisch y P. J. Hastings. 2012. Stress-induced mutation via DNA breaks in *Escherichia coli*: A molecular mechanism with implications for evolution and medicine. *Bioessays.* 34:885–892.
- SAS, Institute Inc. 2006. Statistical Analysis System 9.1.3 User's guide. Cary, NC, USA.
- Scheer, da Silva, A., R. Danielowski, E. J. Bolacel, S. Deuner, A. M. de Magalhães y J. A. Peters. 2011. Development of rice seedlings grown from pre-hydrated seeds and irradiated with gamma rays. *Ciênc. agrotec. Lavras.* 35:1093-1100.
- Songsri, P., B. Suriharn, J. Sanitchon, S. Srisawangwong y T. Kesmala. 2011. Effects of Gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). *J. Biol. Sci.* 11:268-274.
- Stokes, C. A., G. E. MacDonald, C. R. Adams, K. A. Langeland y D. L. Miller. 2011. Seed biology and ecology of natal grass (*Melinis repens*). *Weed Sci.* 59:527-532.
- Thole, V., A. Peraldi, B. Worland, P. Nicholson, J. H. Doonan y P. Vain. 2012. T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany.* 63:567–576.
- Valladares, F., E. Gianoli y J. M. Gomez. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist.* 176:749-763.

ESTUDIO 3. RADIACIÓN GAMMA EN SEMILLA DE PASTO ROSADO
[*Melinis repens* (Willd.) Ziska] PARA GENERAR MUTANTES

RESUMEN

La expresión fenotípica de un pasto está influenciada por factores climáticos, biológicos, químicos, físicos y genéticos. El objetivo de este estudio fue inducir variabilidad en pasto rosado a través de mutagénesis con radiación gamma, para identificar mutantes morfológica y nutricionalmente modificados. Los experimentos tuvieron una duración de dos años. La semilla que se irradió fue previamente recolectada en poblaciones silvestres de pasto rosado en el estado de Chihuahua. Para el proceso de irradiación la semilla fue expuesta a una fuente de Co^{60} en nueve lotes con diferentes dosis: 0, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 Gray (Gy). Un total de 75 plantas de pasto rosado fueron caracterizadas con mutantes de primera generación (M1), además, se incluyeron plantas testigo de semilla sin radiar (no mutantes; M0). En la caracterización morfológica se incluyeron 18 variables en etapa fenológica de madurez avanzada. El contenido nutricional sólo se evaluó en el grupo de M1, cuyos individuos fueron diferenciados morfológicamente, los cuales se consideraron como M1 mutados (M1m). La evaluación nutricional de hemicelulosa, celulosa y lignina se realizó en tres etapas fenológicas. El análisis de los datos se realizó a través de técnicas multivariadas y univariadas con el programa SAS. Se encontró variabilidad morfológica y nutricional en todos los M1m. El M1m R250-10 presentó diferencias morfológicas ($p < 0.001$) y mayor valor nutricional ($p < 0.001$) que los M0. En caso de que las características modificadas se fijen en las siguientes generaciones, este mutante puede ser de mayor interés agronómico y ecológico que el pasto rosado silvestre.

ABSTRACT

GAMMA RADIATION IN SEED OF NATAL GRASS [*Melinis repens* (Willd.) Ziska] TO GENERATE MUTANTS

Phenotypic expression of grasses is influenced by climatic, biological, chemical, physical and genetic factors. The objective of this study was to induce variability in natal grass through mutagenesis induced by gamma radiation, to identify morphologically and nutritionally modified mutants. Experiments were performed during two years. The irradiated seeds were previously extracted from wild natal grass populations of Chihuahua State. For the irradiation stage, the seeds were exposed to a ^{60}Co source in nine lots at different doses: 0, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300 and 350 Gris (Gy). A total of 75 natal grass plants from the first generation of mutants (M1) and non-mutant plants (M0) were characterized. For the morphological characterization, 18 variables in the advanced maturity stage were included. The nutritional content was only evaluated for the M1 group, whose individuals were morphologically differentiated from the rest of the individuals, which were considered as M1 mutated (M1m). The nutritional evaluation was carried out in three phenological stages and the contribution of hemicellulose, cellulose and lignin was determined. The data analysis was performed through multivariate and univariate techniques using the SAS software. Morphological and nutritional variability was found in all the M1m individuals. The M1m R250-10 showed morphological differences ($p < 0.001$) and a higher nutritional value ($p < 0.001$) than the M0. If the modified characteristics get fixed in the following generations, this mutant may be of a greater agronomic and ecological interest than the wild natal grass.

INTRODUCCIÓN

El pasto rosado (*Melinis repens*) se introdujo hace alrededor de 130 años al Continente Americano, actualmente se encuentra naturalizado en la mayor parte de la República Mexicana (Stokes *et al.*, 2011, Herrera-Arrieta, 2001). Esta gramínea posee bajo contenido de proteína y abundancia en tallos lignificados, lo cual hace que sea de baja digestibilidad, comparado con otros pastos nativos (Terán 2010; Melgoza *et al.*, 2014). Por la capacidad de establecerse y desplazar a especies nativas que son clave del Desierto Chihuahuense, esta gramínea es considerada como una de las más invasoras en América (Díaz *et al.*, 2012; Pinedo *et al.*, 2013). Empero, sus características de rusticidad colocan a este pasto como una alternativa en la restauración de suelos altamente degradados.

La mutagénesis es una técnica útil para inducir variabilidad en gramíneas y provocar mutaciones con fines de mejoramiento genético. La inducción de variabilidad en plantas a través de radiación gamma se comenzó a utilizar a principios de 1900. No obstante, este proceso no se ha utilizado en gramíneas silvestres. Probablemente se deba a la complejidad del genoma que presenta los pastos para su manipulación (Jauhar, 2012; SAG, 2012). Por otro lado, en gramíneas de cultivo para forraje se ha utilizado radiación gamma para generar variabilidad en pasto sudan (*Sorghum sudanense*; Horn *et al.*, 2010; Golubnova y Gecheff, 2011), pasto elefante (*Pennisetum purpureum*; Pongtongkam *et al.*, 2005) y zacate guinea (*Panicum maximum*; Lajonchere *et al.*, 1995; Pongtongkam *et al.*, 2006). Así mismo, en gramíneas utilizadas para césped existen algunos estudios que muestran la inducción de variabilidad por mutagénesis. En 1997 se produjo la variedad TifEagle de pasto bermuda

(*Cynodon dactylon*), la cual modificó su morfología foliar y de tallos. A la fecha, esta variedad es muy utilizada en campos de golf por su resistencia al pisoteo (Hanna y Elsner, 1999). Otras variedades de césped han sido modificadas por mutagénesis en talla y características de resistencia a estrés hídrico (Lu *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2009). El pasto de jardín San Agustín (*Stenotaphrum secundatum*) es otra especie cespitosa en la que se ha empleado mutagénesis para obtener diferencias morfológicas (Li *et al.*, 2010). Otras gramíneas modificadas por mutagénesis son el finger millet (*Eleusine coracana*) y el mijo perla (*Pennisetum glaucum / typhoides*; Horn *et al.*, 2010; Ousmane *et al.* 2013; Ambli y Mullainathan, 2014; Ambavane *et al.*, 2015). Éstas dos últimas especies son cultivadas en el Sur de Asia y África para producción de grano para consumo humano y producción de forraje para el ganado.

Las características de rusticidad y valor nutricional que se reportan para el pasto rosado, lo colocan como candidato para generar variación genética con fines de manejo y aprovechamiento. El objetivo fue inducir variabilidad en pasto rosado a través de mutagénesis con radiación gamma, para identificar mutantes morfológica y nutricionalmente modificados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante octubre de 2014, la semilla fue recolectada de poblaciones silvestres del estado de Chihuahua; específicamente en los municipios: Belisario Domínguez, Chihuahua y General Ángel Trías. Seis meses después de la recolección se realizó un análisis a la semilla, para el proceso de la irradiación. En marzo de 2015 la semilla se trasladó al Complejo MOSCAMED de SENASICA-SAGARPA en Metapa de Domínguez, Chiapas, México, para su irradiación. Para ello, se contó con la colaboración del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Rosario Izapa. Las dosis de irradiación se determinaron mediante el sistema de dosimetría Gafchromic y una cámara de ionización RADCAL modelo Accudose. El irradiador utilizado fue un equipo panorámico Gamma Beam 127 MDS Nordion con fuente de almacenamiento de 50 g de Co^{60} en seco. La semilla se dividió en nueve lotes para ser irradiada a: 0, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 Gray (Gy). Posteriormente, se identificarán como mutantes de primera generación (M1) las plantas originadas de semilla irradiada. Las plantas procedentes de semilla sin irradiar (0 Gy) serán mencionadas como testigo (RT) que representan el control o no mutantes (M0).

El desarrollo de plantas se realizó en condiciones de invernadero en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua. En mayo de 2015 se sembró la semilla para producir plantas que fueron evaluadas en otro estudio ese mismo año (Capítulo 2 de esta Disertación). En marzo de 2016 las plantas que sobrevivieron del estudio anterior fueron trasplantadas para ser evaluadas nuevamente en el presente estudio. El trasplante se realizó en

macetas de polietileno negro de 30 cm de altura por 18 cm de diámetro, con 8 perforaciones de 0.5 cm² en la parte inferior. Las macetas se llenaron a una altura de 25-26 cm con suelo franco-arenoso de origen aluvial. Después del trasplante las plantas se homogenizaron con un corte de la parte aérea entre 4 y 5 cm por encima de la corona. Durante el estudio las plantas fueron regadas periódicamente para evitar marchitez.

Para la caracterización morfológica se evaluó un total de 75 plantas sobrevivientes de pasto rosado (R), las cuales constituyeron los grupos: RT, R10, R50, R100, R150, R200, R250, R300 y R350; con 9, 8, 9, 9, 8, 9, 9, 9 y 5 plantas, procedentes de las dosis 0, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 Gy, respectivamente. Las plantas se distribuyeron bajo un diseño experimental en bloques completos al azar. El criterio de bloqueo fue la orientación (para controlar posible variación de clima dentro del invernadero). Para seleccionar mutantes de primera generación diferenciados morfológicamente (M1m) de M0 se tomaron como referencia las guías de descriptores varietales para pasto Buffel (*Pennisetum ciliare*; Guiot *et al.*, 2014) y Banderita (*Bouteloua curtipendula*; Quero *et al.*, 2014). Un total de 18 variables morfológicas cuantitativas fueron medidas en cada individuo durante la etapa fenológica de madurez avanzada, antes del desprendimiento de semilla.

Variables Morfológicas

Hábito de crecimiento (HCR; °) se midieron los grados de inclinación de los tallos perimetrales con un transportador de grados sexagesimales en el perímetro de la corona de planta. El HCR se determinó de acuerdo al rango de inclinación: erecto de 76°-90°, semi erecto de 60°-75°, medio 31°-59°, semi

postrado 15°-30° y postrado 0°-14°. Altura de follaje (AF; cm) se midió del suelo al término de la densidad foliar, sin considerar hojas bandera. Altura de planta (AP; cm) se midió del suelo al ápice más alto de la planta. Proporción altura de follaje-altura planta (pFP) se dividió la altura de follaje entre altura de planta en escala 1 a 1. Peso de biomasa aérea sin semilla (PBA; gr) se cosechó la semilla de la planta, se cortó la PBA y se secó en una estufa Precision Scientific model 6M a temperatura constante de 65 °C durante 48 h. Largo de limbo (LLH; cm) se seleccionaron tres hojas a una altura media del follaje en tallos centrales de la corona y se midió longitud de lámina entre lígula y ápice. Ancho de limbo (ALH; mm) se midió en la parte más ancha de lámina en las mismas hojas que se midió longitud. Concentración de clorofila (ICC; índice) se utilizó un medidor de clorofila Opti-Sciences CCM-200 y se midieron las mismas tres hojas que se utilizaron para largo y ancho, en la parte adaxial de limbo. Largo de limbo de hoja bandera (LHB; cm) se midió longitud de lámina entre lígula y ápice de la hoja más alta en tres tallos centrales de la corona del macollo. Ancho de limbo de hoja bandera (AHB; mm) se midió en la parte más ancha de lámina de limbo de las mismas hojas bandera donde se midió longitud. Peso de hojas (PHO; gr) se pesó el total de hojas de la planta, libre de tallos. Diámetro de tallo (DIT; mm) se seleccionó un tallo central de la corona del macollo y se midió el grosor en la parte media del primer entrenudo con vernier estándar. Densidad de tallos (DET) se contó el número de tallos desarrollados a una altura media de la planta. Peso de tallos (PTA; gr) se pesaron los tallos libres de hoja. Proporción hoja-tallo (pHT) se dividió el peso de hoja entre el peso de tallo en escala 1 a 1. Longitud de panícula (LPA; cm) se midió de la base del pedicelo de la ramilla basal al ápice de la

panícula en tallo central. Peso de semilla (PSE; gr) se cosechó toda la semilla de la planta, se almacenó y después de tres meses se pesó sin humedad de pisca. Proporción semilla biomasa aérea (pSB) se dividió el peso de semilla entre el peso de biomasa aérea sin semilla.

Análisis Nutricional

Para determinar el contenido nutricional sólo se evaluaron las plantas M1m y M0 en tres etapas fenológicas (crecimiento, reproductiva y latencia) durante el año 2016. En etapa de crecimiento se dejó crecer el rebrote durante 21 d y se cortó la biomasa aérea (BA) entre 15 y 23 cm de altura. Para etapa de madurez, de nuevo se dejó crecer la planta hasta alcanzar su máxima altura y la BA se cortó en plena floración a los 42 d de edad. Para evaluar etapa de latencia se dejaron crecer nuevamente las plantas y se continuó con riegos periódicos durante 6 semanas hasta concluir su floración. A partir de esa fecha, se disminuyeron los riegos paulatinamente para inducir latencia sin provocar la muerte de plantas. La BA en esta etapa se cortó a las 14 semanas de edad.

En todas las etapas fenológicas los cortes de BA se hicieron entre 3 y 4 cm por encima de la corona. La BA fue secada en una estufa Precision Scientific modelo 6M a temperatura constante de 65 °C durante 48 h. La materia seca (MS) se molió a tamaño de partícula entre 0.1 y 1.0 mm. Para determinar materia seca absoluta de planta (MASP) y aumentar la precisión en contenido de fibras y PC, nuevamente se colocaron las muestras en la estufa a temperatura constante de 105 °C durante 24 h. Posteriormente se realizó fraccionamiento de fibras con el protocolo Ankom, basado en el método de Van Soest (1963); se incluyeron tres repeticiones de MS por cada M1m y RT. Para RT se realizó una alícuota de MS

que incluyo todas las plantas RT. Las siguientes formulas fueron utilizadas para fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA):

$$FDN = \frac{DN - [PB (\% DNB)]}{MSAP - CEP} * 100,$$

donde: FDN = fibra detergente neutro, DN = digestión neutra, PB = peso de la bolsa Ankom, % DNB = porcentaje de digestión neutra de la bolsa Ankom, MSAP = peso de materia seca absoluta de pasto, CEP = peso de ceniza de pasto.

$$FDA = \frac{DA - [PB (\% DAB)]}{MSAP - CEP} * 100,$$

donde: FDA = fibra detergente ácido, DA = digestión ácida, PB = peso de la bolsa Ankom, % DAB = porcentaje de digestión ácida de la bolsa Ankom, MSAP = peso de materia seca absoluta de pasto, CEP = peso de ceniza de pasto, % MSA = porcentaje de materia seca absoluta de pasto.

$$LDA = \frac{DAS - [PB (\% DASB)]}{MSAP - CEP (\% MSAP)} * 100,$$

donde: LDA = lignina detergente ácido, DAS = digestión de ácido sulfúrico al 72 %, PB = peso de la bolsa Ankom, % DASB = porcentaje de digestión de la bolsa Ankom en ácido sulfúrico al 72 %, MSAP = peso de materia seca absoluta de pasto, CEP = peso de ceniza de pasto, % MSAP = porcentaje de materia seca absoluta de pasto.

Una vez obtenidos FDN, FDA y LDA, los porcentajes de hemicelulosa (HEM), celulosa (CEL) y lignina (LIG) se determinaron por diferencia: HEM = FDN - FDA, CEL = FDA - LDA y LIG = LDA. Se puede juntar este párrafo con el siguiente y hacer uno solo para que no esté tan atomizado el texto

El contenido de proteína cruda (PC) se determinó por separado con el protocolo LECO basado en el método de combustión DUMAS (Watson y Galliher, 2001). Para esta prueba se incluyeron tres repeticiones para los M1m y RT con la misma MS preparada para análisis de fibras.

Las variables ambientales se monitorearon dentro del invernadero y se registraron durante 2 años (2015-2016). Estas fueron: temperatura (T°), humedad relativa del aire (HR) y radiación solar (RdS). Para T° y HR se utilizaron sondas modelo HMP60 y marca Vaisala Inc., Woburn, MA, USA, respectivamente. Adicionalmente, se instaló un sensor de radiación de onda corta LI-200X, Li-Cor, Lincoln, NE, USA. Estas variables fueron registradas cada hora en un sistema de adquisición y almacenamiento de datos modelo DataLogger CR1000, marca Campbell Scientific Inc., Logan, UT, USA. Los años 2015 y 2016 la T° media fue de 28 °C con una máxima de 48 °C (junio) y una mínima de 14 °C (septiembre). La media general para la HR fue de 26 % con un valor mínimo de 15 % en junio y un máximo del 47 % en septiembre. La máxima RdS se presentó en julio con 760 W m⁻² y el mes de agosto registró la menor radiación con 650 W m⁻². En el año 2016 la T° media fue de 27 °C con una máxima de 47 °C (junio) y una mínima de 13 °C (septiembre). La media general para la HR fue de 28 % con un valor mínimo de 17 % en junio y un máximo del 48 % en septiembre. La máxima RdS se presentó en julio con 750 W m⁻² y el mes de agosto registró la menor radiación con 620 W m⁻².

Análisis Estadístico

Para la caracterización morfológica se utilizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) a partir de la matriz de correlaciones. Además, se realizó

análisis Clúster (ACL) con el método de ligamiento de Ward (Núñez-Colín y Escobedo-López, 2011). El criterio de agrupación se dio con base en los pseudo estadísticos F, T², CCC, basados en el coeficiente cuadrado de Pearson (R²) para determinar nivel de similitud entre grupos. Se incluyó Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA) con Contrastes Ortogonales para determinar diferencias multivariadas entre grupos.

Las variables químicas nutricionales se analizaron por separado en tres etapas fenológicas. Se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) y prueba de comparación múltiple de medias con la prueba de Dunnett. Todos los análisis fueron realizados con el programa SAS 9.1.3 (SAS, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las variables morfológicas el ACP indica que los primeros tres CP explican el 63.6 % de varianza total (Cuadro 5). En este caso el CP1 explicó la mayor proporción de la variabilidad total, mientras que los CP2 y CP3 fueron muy similares en la proporción de la varianza que controlan. En el Cuadro 6 se muestra la ponderación de la aportación por variable original en cada CP. El peso de semilla fue el que más contribuyó al CP1, le siguieron PBA, PTA, pSB y DTA, respectivamente. En el CP2 las variables de mayor contribución fueron pFP, LPA, LHB y AHB, respectivamente. Las variables que más contribuyeron en los dos primeros CP representan atributos relacionados con la dispersión de plantas y producción de materia seca. Mientras tanto, las variables con mayor aportación en el CP3 fueron PHO, pHT y AP, respectivamente, las cuales están relacionadas con la calidad del forraje. Estos tres CP constituyen nuevas variables que en el futuro pudieran facilitar la diferenciación generada por la variabilidad morfológica entre individuos de pasto rosado a través de mutagénesis.

La Figura 4 presenta la dispersión de los individuos en los dos primeros CP, de acuerdo a su morfología. El grupo (G) 1 incluyó plantas con tallos gruesos y de talla alta, pero pobres en producción relativa de follaje. En el G2 se distribuyeron plantas con alta densidad de tallos, hojas anchas, inflorescencias largas y producción alta de biomasa aérea. En el G3 se integraron las plantas de talla mediana que mostraron un hábito de crecimiento erecto en comparación con el resto. Mientras que en el G4 se distribuyeron plantas de talla baja, con inflorescencias cortas, tallos delgados, baja densidad de tallos y con

Cuadro 5. Valores propios de los componentes principales (CP) generados a partir de 18 variables morfológicas cuantitativas de 75 plantas de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)

CP	Valor propio	Diferencia	Proporción	Acumulada
1	6.849	4.447	0.381	0.381
2	2.402	0.204	0.133	0.514
3	2.197	0.692	0.122	0.636
4	1.505	0.315	0.084	0.720
5	1.190	0.185	0.066	0.786
6	1.005	0.284	0.056	0.842
7	0.721	0.161	0.040	0.882
8	0.560	0.142	0.031	0.913
9	0.417	0.023	0.023	0.936
10	0.394	0.141	0.022	0.958
11	0.253	0.069	0.014	0.972
12	0.184	0.029	0.010	0.982
13	0.155	0.046	0.009	0.991
14	0.109	0.061	0.006	0.997
15	0.049	0.042	0.003	1.000
16	0.007	0.005	0.000	1.000
17	0.003	0.003	0.000	0.000
18	0	0	1	1

Cuadro 6. Contribución de 18 variables morfológicas cuantitativas para la generación de los tres primeros componentes principales (CP), de 75 plantas de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)

Vectores característicos y valor descriptivo de las variables originales			
Variable	CP1	CP2	CP3
HCR	-0.170	-0.232	-0.136
AF	0.191	-0.240	-0.018
AP	0.194	0.144	-0.321
pFP	0.018	-0.390	0.297
PBA	0.345	0.067	0.140
LLH	0.174	-0.281	0.134
ALH	0.251	-0.239	0.207
LHB	-0.008	0.346	0.272
AHB	0.045	0.330	0.338
ICC	0.230	-0.227	0.279
PHO	0.105	0.228	0.462
DIT	0.250	0.256	-0.108
DET	0.313	0.135	0.020
PTA	0.343	0.001	-0.039
pHT	-0.255	0.091	0.402
LRI	0.207	0.357	-0.200
PSE	0.357	-0.071	0.014
pSB	0.324	-0.138	-0.121

HCR= hábito de crecimiento, AF= altura de follaje, AP= Altura de planta, pFP= proporción follaje-planta, PBA= Peso de biomasa aérea sin semilla, LLH= Longitud de limbo de hoja, ALH= Ancho de limbo de hoja, ICC= Índice de concentración de clorofila, LHB= Longitud de limbo de hoja bandera, AHB= Ancho de limbo de hoja bandera, PHO = peso de hojas, DIT= diámetro de tallo, DET = densidad de tallos, PTA = peso de tallos, pHT = proporción peso de hojas-peso de tallos, LRI= Longitud de raquis de la inflorescencia, PSE= peso de la semilla de toda la planta, pSB= proporción semilla-biomasa aérea.

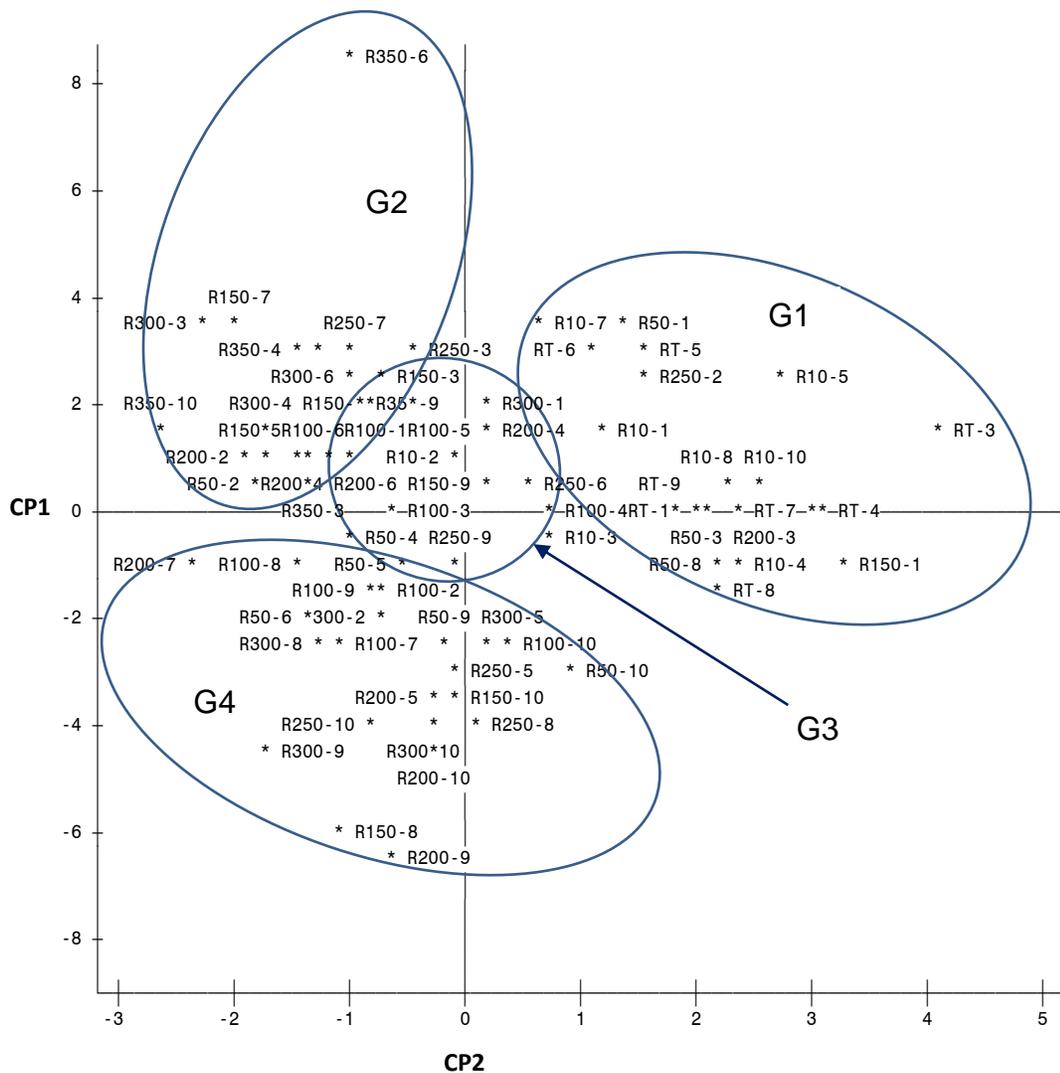


Figura 4. Distribución multivariante en los dos primeros componentes principales (CP) a partir de 18 variables morfológicas cuantitativas, de 75 plantas de pasto rosado (R) [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co^{60} (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (RT; M0). G = grupo.

características para producir menor cantidad de semilla que el resto de los grupos. A pesar de que todos los individuos se desarrollaron en las mismas condiciones, se observó una expresión fenotípica diferente. No obstante, ésta no dependió del nivel de radiación a la cual fue expuesta la semilla, ya que en diferentes agrupaciones se pueden encontrar M1 que proceden de diferentes dosis. Los rayos gamma pueden provocar cambios en la estructura del genoma; sin embargo, estos son aleatorios y dependerá en gran medida de la intensidad de la radiación. Es por eso que al emplear la técnica de mutagénesis por agentes físicos como el Co^{60} , es necesario determinar dosis óptimas para mutaciones más efectivas (Songsri *et al.*, 2011; Thole *et al.*, 2012; Olasupo *et al.*, 2016).

Para el análisis Clúster las diferencias morfológicas entre individuos permitieron la formación de grupos por afinidad fenotípica (Figura 5). El criterio para determinar el número de grupos se tomó por ausencia de M0 en los Clúster generados. Es decir, cuando uno de los grupos no incluyera plantas no mutadas. De esta manera se formaron cuatro grupos y de acuerdo a los psuedo estadísticos CCC, F y T^2 , presentaron un coeficiente de similitud $R^2 = 0.48$ entre Clúster. El G1 se constituyó de 30 individuos que incluyó plantas M0 y M1. Este grupo presentó los individuos con mayor altura de follaje, mayor altura de planta, los tallos más gruesos, y las hojas más largas. El G2 se integró de 19 individuos y al igual que el G1, éste incluyó plantas M0 y M1. Las plantas de este grupo presentaron la mayor densidad de tallos, hojas más anchas, inflorescencias más largas, el mayor peso de hojas, mayor peso en tallos y los pesos de biomasa aérea más altos. En el G3 se integraron 18 individuos, incluida una planta M0.

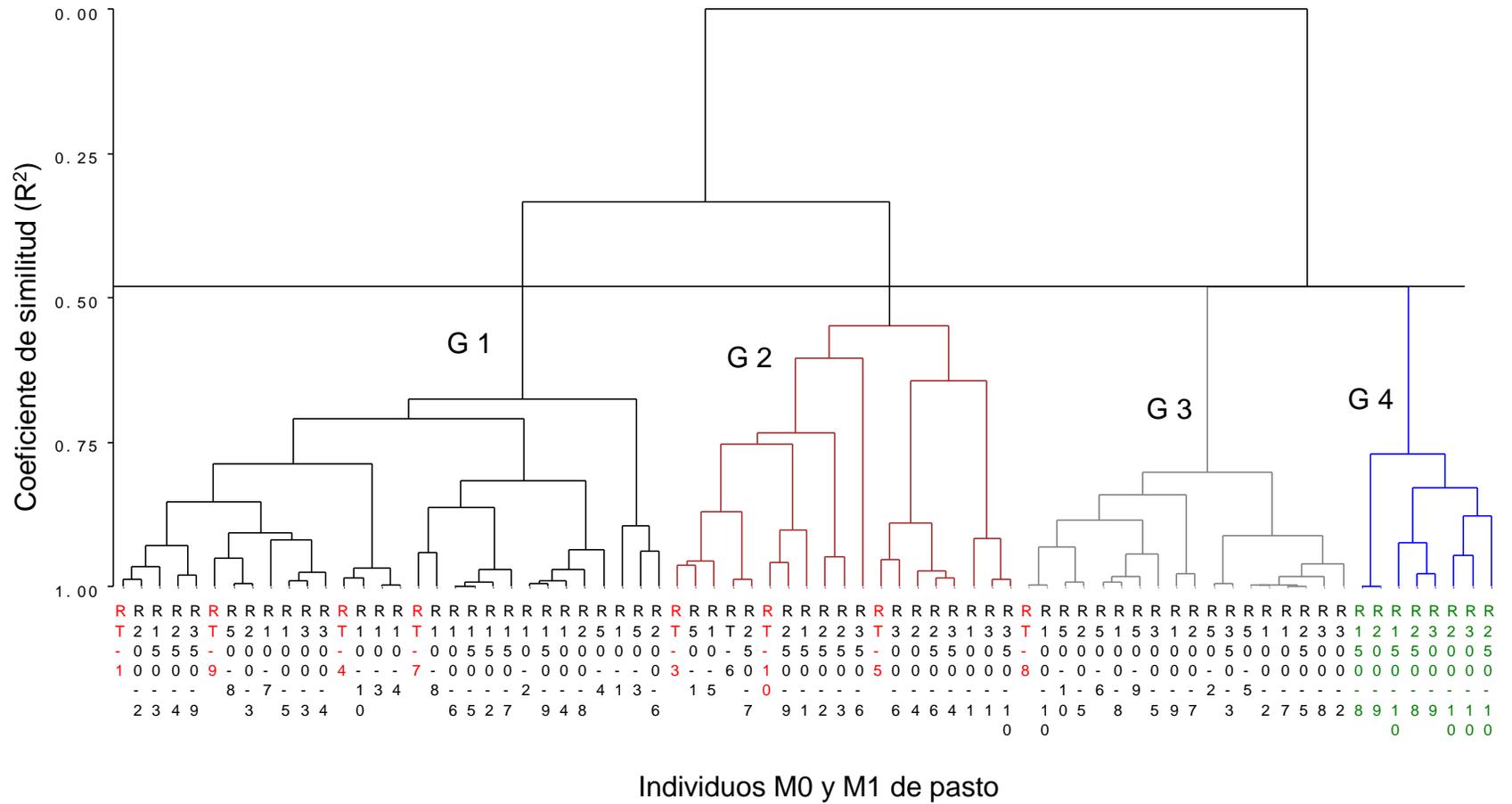


Figura 5. Análisis Clúster por agrupamiento de Ward con base en 18 variables morfológicas cuantitativas de 75 individuos de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla expuesta a diferentes dosis de radiación con Co^{60} (M1) y pastos de semilla sin irradiar (RT; M0).

Este grupo excluyó plantas de R10 y R150. Las plantas de este grupo presentaron un hábito de crecimiento más erecto al resto de los grupos, menor peso de hojas y hojas bandera más cortas que el resto de los grupos. Finalmente, el G4 se constituyó de ocho individuos M1 originados de semilla irradiada con dosis de 150, 200, 250 y 300 Gy. Este grupo se caracterizó por presentar individuos con la menor altura de planta, las inflorescencias más cortas, los tallos más delgados, menor densidad de tallos, mayor proporción en peso de hojas con respecto al peso de tallos y menor peso de semilla. Las plantas del G4 fueron designadas como M1m por ser morfológicamente diferentes a M0 y el resto de M1. Por lo anterior se infiere que en las plantas del G4 ocurrió mutación morfológica.

Aunque la radiación gamma es aleatoria en la inducción de mutagénesis, de acuerdo a la agrupación observada en este estudio, los M1m proceden de semilla expuesta desde 150 hasta 300 Gy. En este sentido, se puede inferir que la aleatoriedad para mutaciones se reduce al encontrar dosis óptimas de radiación. Al respecto, algunos investigadores afirman que las mutaciones efectivas ocurren alrededor de la dosis óptima estimada *a priori* (Morela *et al.* 2002; Khalil *et al.*, 2014).

Los análisis descriptivos de ACP y ACL fueron coincidentes en la distribución de los individuos de pasto rosado. Esto permite inferir que existió efecto de radicación gamma en la variación morfológica de algunas plantas. No obstante, es necesario corroborar la variabilidad presentada con un análisis estadístico más robusto como el MANOVA. El cuadro 7 muestra el resultado de

Cuadro 7. Contrastes ortogonales para MANOVA entre grupos (G) generados por análisis Clúster, de 75 individuos de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)

Estadístico Lamda (L) de Wilks			
Contraste	Valor L	Valor F	Valor P
G 1 vs G 2	0.31	7.18	<0.0001
G 1 vs G 3	0.23	11.13	<0.0001
G 1 vs G 4	0.14	20.28	<0.0001
G 2 vs G 3	0.42	4.55	<0.0001
G 2 vs G 4	0.17	16.20	<0.0001
G 3 vs G 4	0.34	6.28	<0.0001

P<0.05 indica diferencia multivariada estadística entre grupo, F = Estadístico basado en la Distribución F de Fisher-Snedecor.

los contrastes ortogonales entre los cuatro grupos formados en el dendograma de ACL. Se presentó diferencia estadística multivariante ($p < 0.001$) entre grupos. Sin embargo, aunque los G1, G2 y G3 fueron diferentes entre sí, cada uno de éstos adoptó plantas RT. Indistintamente de las dosis de radiación en la semilla, el desarrollo de plantas tuvo un comportamiento diferenciado, lo cual refirma el efecto de la radiación en la expresión fenotípica.

Lo anterior hizo necesario incluir contrastes ortogonales por grupo, en cada variable morfológica original (Cuadro 8). Esto permitió determinar cuáles variables tuvieron el efecto suficiente para diferenciar al G4 de los demás grupos que integraron plantas M0. Por ejemplo, en las variables longitud de limbo de hoja, así como ancho y largo de hoja bandera, todos los grupos fueron iguales ($p > 0.05$). En hábito de crecimiento el G1, G2 y G3 fueron diferentes entre ellos ($p < 0.05$); sin embargo, dentro de éstos se encontraron plantas M0. Por otro lado, el G1, G2 y G3 fueron diferentes ($p < 0.05$) al G4 en hábito de crecimiento. Este comportamiento indica que el nivel de radiación en la semilla no generó variabilidad en estas variables, ya que individuos M0 se agruparon con plantas M1. Tampoco las variables altura de follaje y proporción del peso de hojas con respecto al peso de tallos el G 1, G 2 y G 3 presentaron diferencia ($p > 0.05$). A su vez, éstos grupos presentaron mayor altura de follaje ($p < 0.05$) y menor pHT ($p < 0.05$) que el G4. Este comportamiento indica que existió efecto por radiación gamma en la semilla, lo cual provocó que el G 4 presentara variabilidad morfológica en estas dos variables. En peso de tallos y peso de semillas, todos los grupos fueron diferentes ($p < 0.05$). También es posible que en estas variables

Cuadro 8. Contrastes ortogonales por variables originales entre Clúster reagrupados de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co⁶⁰ (M1) a diferentes dosis y plantas de semilla sin irradiar (M0)

Variable	Contraste	Valor F	Valor P	Variable	Contraste	Valor F	Valor P
Hábito de crecimiento	G1 vs G2	7.47	0.008	Ancho de hoja bandera	G1 vs G2	0.38	0.537
	G1 vs G3	21.54	<0.001		G1 vs G3	1.39	0.243
	G1 vs G4	9.71	0.003		G1 vs G4	1.27	0.264
	G2 vs G3	5.92	0.018		G2 vs G3	0.48	0.493
	G2 vs G4	1.65	0.203		G2 vs G4	0.54	0.464
	G3 vs G4	0.25	0.617	G3 vs G4	0.04	0.838	
Altura de follaje	G1 vs G2	3.45	0.068	índice de concentración de clorofila	G1 vs G2	1.08	0.302
	G1 vs G3	0.07	0.791		G1 vs G3	7.21	0.009
	G1 vs G4	11.05	0.001		G1 vs G4	4.49	0.038
	G2 vs G3	2.35	0.130		G2 vs G3	3.77	0.056
	G2 vs G4	23.91	<0.001		G2 vs G4	2.19	0.144
	G3 vs G4	12.27	0.001	G3 vs G4	0.00	0.982	
Altura de planta	G1 vs G2	28.56	0.000	Longitud de inflorescencia	G1 vs G2	0.20	0.653
	G1 vs G3	0.29	0.592		G1 vs G3	14.81	<0.001
	G1 vs G4	23.51	<0.001		G1 vs G4	54.33	<0.001
	G2 vs G3	34.22	<0.001		G2 vs G3	14.45	<0.001
	G2 vs G4	82.33	<0.001		G2 vs G4	55.86	<0.001
	G3 vs G4	19.29	<0.001	G3 vs G4	18.76	<0.001	
Proporción altura de follaje- altura de planta	G1 vs G2	2.23	0.140	Peso de tallos	G1 vs G2	7.70	0.007
	G1 vs G3	0.43	0.514		G1 vs G3	35.46	<0.001
	G1 vs G4	0.00	0.969		G1 vs G4	55.04	<0.001
	G2 vs G3	4.81	0.032		G2 vs G3	14.75	<0.001
	G2 vs G4	1.12	0.293		G2 vs G4	33.80	<0.001
	G3 vs G4	0.30	0.587	G3 vs G4	7.56	0.008	
Diámetro de tallo	G1 vs G2	2.23	0.140	Peso de hojas	G1 vs G2	10.06	0.002
	G1 vs G3	0.43	0.514		G1 vs G3	18.04	<0.001
	G1 vs G4	0.00	0.969		G1 vs G4	4.12	0.046
	G2 vs G3	4.81	0.032		G2 vs G3	2.45	0.122
	G2 vs G4	1.12	0.293		G2 vs G4	0.03	0.852
	G3 vs G4	0.30	0.587	G3 vs G4	1.62	0.207	
Densidad de tallos	G1 vs G2	59.58	<0.001	Proporción peso de hojas-peso de tallos	G1 vs G2	0.05	0.819
	G1 vs G3	118.55	<0.001		G1 vs G3	3.26	0.075
	G1 vs G4	174.63	<0.001		G1 vs G4	42.13	<0.001
	G2 vs G3	19.55	<0.001		G2 vs G3	3.91	0.080
	G2 vs G4	69.05	<0.001		G2 vs G4	49.62	<0.001
	G3 vs G4	21.89	<0.001	G3 vs G4	25.42	<0.001	
Largo de limbo de hoja	G1 vs G2	0.01	0.924	Peso de semillas	G1 vs G2	14.52	<0.001
	G1 vs G3	0.72	0.400		G1 vs G3	56.92	<0.001
	G1 vs G4	1.48	0.228		G1 vs G4	67.76	<0.001
	G2 vs G3	1.06	0.307		G2 vs G3	20.94	<0.001
	G2 vs G4	1.84	0.179		G2 vs G4	34.94	<0.001
	G3 vs G4	0.30	0.584	G3 vs G4	5.40	0.023	
Ancho de limbo de hoja	G1 vs G2	0.31	0.580	Peso de biomasa aérea	G1 vs G2	19.55	<0.001
	G1 vs G3	6.33	0.014		G1 vs G3	65.69	<0.001
	G1 vs G4	9.10	0.004		G1 vs G4	68.22	<0.001
	G2 vs G3	4.97	0.029		G2 vs G3	21.10	<0.001
	G2 vs G4	7.76	0.007		G2 vs G4	30.15	<0.001
	G3 vs G4	1.09	0.299	G3 vs G4	3.68	0.059	
Largo de hoja bandera	G1 vs G2	0.63	0.429	Proporción peso de biomasa aérea-peso de semillas	G1 vs G2	4.07	0.047
	G1 vs G3	1.09	0.299		G1 vs G3	28.04	<0.001
	G1 vs G4	0.11	0.743		G1 vs G4	59.58	<0.001
	G2 vs G3	0.14	0.712		G2 vs G3	14.88	<0.001
	G2 vs G4	0.06	0.812		G2 vs G4	44.74	<0.001
	G3 vs G4	0.23	0.630	G3 vs G4	12.65	<0.001	

P<0.05 indica diferencia multivariada estadística entre grupo, con base en Lamda de Wilks.

haya existido efecto por radiación gamma en la semilla, ya que se ha comprobado que la inducción de mutaciones provoca variación intraespecífica y alberga la posibilidad de generar atributos que la especie no presenta o que ésta ha perdido evolutivamente (Brock, 1977; Forster y Shu, 2011). Por lo anterior, es probable que la variabilidad encontrada en algunas variables haya sido provocada por mutagénesis. Sin embargo, algunos grupos que incluyeron plantas de M0, también fueron diferentes entre sí. Para asegurar un mutante no basta con la expresión en los M1, ya que las características deberán ser fijadas en las siguientes generaciones y asegurar que no se trate de quimeras (Prina *et al.*, 2011; Mba, 2013).

En el Cuadro 9 se presenta el análisis nutricional en tres etapas fenológicas de los M1m y M0 de pasto rosado. Todas las plantas mostraron un aumento en contenido de fibras estructurales a medida que ésta avanzó en edad; por el contrario, el contenido de PC tendió a disminuir. Este comportamiento es común en los pastos, al aumentar la madurez también aumentan HEM, CEL y LIG, mientras que la CP disminuye (Wilkie, 1979; Van Soest *et al.*, 1992; Van Soest, 1994; Romero *et al.*, 2013). Los resultados de FDN en M1m y M0 en etapa de rebrote, oscilaron entre el 51 y 61 %. Estos son semejantes a los reportados para la misma especie en floración, 54.2 y 56.4 % (Bezabih *et al.*, 2013). Los resultados de M1m y M0 para etapa reproductiva y latencia en este estudio fueron del 64 al 74 % y del 72 al 75 %, respectivamente.

El Cuadro 10 muestra los resultados del ANOVA en contenido nutricional de tres etapas fenológicas para los M1m y M0 de pasto rosado. El error estándar

Cuadro 9. Composición química por etapa fenológica en ocho mutantes (R150-R300; M1m) de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co⁶⁰ y pastos de semilla sin irradiar (RT; M0)

Etapa	M1m y M0	% MS	% FDN	% FDA	% LDA	% CEN
Crecimiento	RT	91.40	57.58	26.88	2.84	4.00
	R150-8	91.40	58.92	28.86	2.23	3.94
	R150-10	91.40	58.61	26.44	2.25	3.68
	R200-9	91.40	58.76	27.90	2.29	3.67
	R200-10	91.40	58.02	25.40	2.46	3.71
	R250-8	91.40	61.21	29.36	2.52	3.98
	R250-10	91.40	50.95	27.02	1.57	3.87
	R300-9	91.40	58.98	28.46	2.30	4.05
	R300-10	91.40	58.14	26.17	2.39	3.72
Reproductiva	RT	92.86	71.72	36.31	3.76	5.63
	R150-8	92.86	72.95	36.58	3.34	5.53
	R150-10	92.86	69.75	36.11	3.71	5.50
	R200-9	92.86	74.87	40.25	4.34	5.56
	R200-10	92.86	69.58	35.63	4.11	5.71
	R250-8	92.86	70.08	36.76	4.30	5.44
	R250-10	92.86	63.93	32.04	2.32	5.81
	R300-9	92.86	69.89	36.57	4.07	5.53
	R300-10	92.86	70.40	36.70	3.87	5.73
Latencia	RT	93.22	75.20	40.82	5.16	7.80
	R150-8	93.22	71.69	38.95	5.11	8.07
	R150-10	93.22	74.22	40.95	5.88	7.54
	R200-9	93.22	75.25	40.92	6.02	7.53
	R200-10	93.22	74.58	40.20	4.98	8.11
	R250-8	93.22	72.50	38.86	5.02	7.74
	R250-10	93.22	76.26	34.89	4.53	7.51
	R300-9	93.22	75.04	39.64	5.61	7.67
	R300-10	93.22	73.16	41.25	5.77	7.57

R150-R300 = Mutantes de pasto rosado (M1m). RT = plantas testigo de pasto rosado (M0). MS = materia seca, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, LDA = lignina detergente ácido, CEN = cenizas.

Cuadro 10. Medias \pm error estándar con la prueba Dunnett para contenido de fibras y proteína por etapa fenológica en ocho mutantes (R150-R300; M1m) de pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka], desarrollado de semilla irradiada con Co^{60} vs pastos de semilla sin irradiar (RT; M0)

Etapa	M1m y M0	% HEM	% CEL	% LIG	% PC
Crecimiento	RT	30.7 \pm 0.63	24.0 \pm 0.47	2.8 \pm 0.18	17.7 \pm 0.23
	R150-8	30.1 \pm 0.63	26.6 \pm 0.47***	2.2 \pm 0.18	16.8 \pm 0.23
	R150-10	32.2 \pm 0.63	24.2 \pm 0.47	2.2 \pm 0.18	17.5 \pm 0.23
	R200-9	30.9 \pm 0.63	25.6 \pm 0.47	2.3 \pm 0.18	15.9 \pm 0.23***
	R200-10	32.6 \pm 0.63	22.9 \pm 0.47	2.5 \pm 0.18	18.7 \pm 0.23
	R250-8	31.9 \pm 0.63	26.8 \pm 0.47***	2.5 \pm 0.18	15.3 \pm 0.23***
	R250-10	23.9 \pm 0.63***	25.4 \pm 0.47	1.6 \pm 0.18***	19.5 \pm 0.23***
	R300-9	30.5 \pm 0.63	26.2 \pm 0.47	2.3 \pm 0.18	15.5 \pm 0.23***
	R300-10	32.0 \pm 0.63	23.8 \pm 0.47	2.4 \pm 0.18	17.3 \pm 0.23
Reproductiva	RT	35.4 \pm 0.5	32.5 \pm 0.34	3.8 \pm 0.23	11.0 \pm 0.11
	R150-8	36.4 \pm 0.5	33.2 \pm 0.34	3.3 \pm 0.23	8.7 \pm 0.11***
	R150-10	33.6 \pm 0.5	32.4 \pm 0.34	3.7 \pm 0.23	9.7 \pm 0.11***
	R200-9	34.6 \pm 0.5	35.9 \pm 0.34***	4.3 \pm 0.23	8.5 \pm 0.11***
	R200-10	34.0 \pm 0.5	31.5 \pm 0.34	4.1 \pm 0.23	9.6 \pm 0.11***
	R250-8	33.3 \pm 0.5	32.5 \pm 0.34	4.3 \pm 0.23	10.9 \pm 0.11
	R250-10	31.9 \pm 0.5***	29.7 \pm 0.34	2.3 \pm 0.23***	13.6 \pm 0.11***
	R300-9	33.3 \pm 0.5	32.5 \pm 0.34	4.1 \pm 0.23	10.7 \pm 0.11
	R300-10	33.7 \pm 0.5	32.8 \pm 0.34	3.9 \pm 0.23	8.4 \pm 0.11***
Latencia	RT	34.4 \pm 0.46	35.7 \pm 0.49	5.2 \pm 0.27	6.0 \pm 0.14
	R150-8	32.7 \pm 0.46	33.8 \pm 0.49	5.1 \pm 0.27	5.9 \pm 0.14
	R150-10	33.3 \pm 0.46	35.1 \pm 0.49	5.9 \pm 0.27	5.7 \pm 0.14
	R200-9	34.3 \pm 0.46	34.9 \pm 0.49	6.0 \pm 0.27	5.8 \pm 0.14
	R200-10	34.4 \pm 0.46	35.2 \pm 0.49	5.0 \pm 0.27	6.0 \pm 0.14
	R250-8	33.6 \pm 0.46	33.8 \pm 0.49	5.0 \pm 0.27	5.8 \pm 0.14
	R250-10	41.4 \pm 0.46***	30.4 \pm 0.49***	4.5 \pm 0.27	6.9 \pm 0.14***
	R300-9	35.4 \pm 0.46	34.0 \pm 0.49	5.6 \pm 0.27	5.9 \pm 0.14
	R300-10	31.9 \pm 0.46***	35.5 \pm 0.49	5.8 \pm 0.27	6.0 \pm 0.14

*** diferencia $p < 0.05$ de M1m vs M0. HEM = hemicelulosa, CEL = celulosa, LIG = lignina, PC = proteína cruda.

de las medias para PC fue entre el 1.0 y 2.5 %, para HEM fue del 1.1 al 2.6 %, en CEL del 1.0 al 2.0 % y el valor más alto se presentó en las medias de LIG del 4.5 al 11.0 %. Tomando en cuenta los tres estados fenológicos, todos los M1m presentaron diferencia ($p < 0.05$) con los M0 en algún compuesto nutricional. En etapa de crecimiento se encontró diferencia ($p < 0.05$) en contenido de fibras estructurales y PC entre M1m y M0. En contenido de HEM el M1m R250-10 presentó menor ($p < 0.05$) contenido de HEM que los pastos M0, el resto de los M1m, no presentaron diferencia ($p > 0.05$) con M0 en este compuesto. Los M1m R150-8 y R250-8 mostraron mayor ($p < 0.05$) aporte de celulosa que los M0. Con respecto a LIG, solamente el M1m R250-10 fue menor ($p < 0.05$) a los RT en el contenido de este polímero estructural. Los M1m R200-9, R250-8 y R-300-9 presentaron menor ($p < 0.05$) cantidad de PC que M0, por el contrario, el M1m R250-10 tuvo mayor ($p < 0.05$) aporte de PC que los pastos M0.

En etapa reproductiva solo el mutante M1m R250-10 fue menor ($p < 0.05$) que los M0 en contenido HEM y LIG, el resto de los mutantes no presentaron diferencia a los M0 en estos compuestos. En aporte de CEL, solamente el M1m R200-9 presentó mayor porcentaje ($p < 0.05$) que los M0. Con respecto a PC, los M1m R158-8, R150-10, R200-10 y R300-10 mostraron menor ($p < 0.05$) aporte que los pastos M0. Por el contrario, el M1m R250-10 presentó mayor ($p < 0.05$) contenido de PC que los M0. El total de fibras estructurales (73.2 a 79.2 %) presentado en este estudio fue relativamente alto, comparado con los resultados de Bezabih *et al.* (2013), quienes reportan que en praderas semi-áridas de la sabana del Valle del Rift en Etiopía, en el mes de agosto esta especie presentó del 54.2 al 56.4 % de FDN. Posiblemente la diferencia de condiciones

ambientales, nutrientes en el suelo y otros factores, fueron causa de la diferencia en el contenido de fibras. Sin embargo, la diferencia en fibras estructurales de la misma especie entre Chihuahua y Sudáfrica fue al rededor del 22 % en etapa fenológica similar, la cual puede ser considerada alta. Con respecto a la PC, se pudo observar que en etapa de rebrote, este componente fue muy superior a lo reportado por otros investigadores. Sousa *et al.* (1999) encontraron el 1.4 % de nitrógeno total en pasto rosado, lo cual corresponde a 8.75 % de PC, aplicando el factor de corrección de 6.25. No obstante, no se detalla la etapa fenológica en que se realizó el estudio. En otra publicación, Melgoza *et al.* (2014) mencionan valores del 4.0 al 6.0 % de PC en pasto rosado durante la etapa de crecimiento. González *et al.* (2012) reportaron valores de 5.52 % de PC en etapa de latencia para un pastizal amacollado invadido por pasto rosado en el estado de Durango. En un estudio del valor nutricional de la dieta para bovinos en un pastizal con presencia del 87 % de pasto rosado, Gutiérrez (2015) encontró el 13.2, 10.7 y 6.5 % de PC en las etapas de crecimiento, floración y latencia, respectivamente. Éste mismo determinó para FDN valores de 70, 71 y 72 % en crecimiento, floración y latencia, respectivamente; la FDA que reportó fue del 42 % en las tres etapas fenológicas. Cabe señalar que los resultados de este último autor son los que más semejan a los resultados del presente estudio. Lo anterior podría atribuirse a que las poblaciones de pasto rosado en el Estado de Chihuahua, son similares en contenido nutricional.

Por el aporte nutricional del pasto rosado encontrado en este estudio, se podría considerar como un forraje de calidad regular a buena; ya que, al revisar resultados de especies nativas calificadas de buen valor nutricional, esta especie

invasora superó valores de PC en etapa de crecimiento y floración. Sin embargo, la PC no es la única variable que se considera para calificar a un forraje como bueno, falta digestibilidad y aceptación por el ganado entre otros atributos. Morales *et al.* (2009) mencionan que el navajita (*Bouteloua gracilis*) en etapa de crecimiento contiene del 12 al 15 % de PC. Para el banderilla (*Bouteloua curtipendula*) variedad Diana se reporta el 8.6 % y 3.6 % de PC en floración y madurez, respectivamente (Beltrán *et al.*, 2013). En navajita variedad Cecilia se reportó el 9.7 % de PC en floración y 3.4 % en madurez (Beltrán *et al.*, 2010).

En etapa de latencia, el M1m R250-10 aportó mayor ($p < 0.05$) contenido de HEM que los M0, mientras que el M1m R300-10 tuvo menor ($p < 0.05$) aporte en este compuesto que los M0. Con respecto a la CEL, el M1m R50-10 presentó menor ($p < 0.05$) porcentaje que los M0. Para el compuesto lignina, ningún M1m presentó diferencia ($p > 0.05$) con los M0 en esta etapa fenológica. En PC, solamente el M1m fue diferente ($p < 0.05$) a los M0, al presentar el 1.9 % más de este compuesto en etapa de latencia. Algunos autores mencionan que el Pasto rosado posee contenidos altos de lignina (Melgoza *et al.*, 2014); sin embargo, no reportan valores para este polímero.

Aunque todos los M1m de pasto rosado se diferenciaron nutricionalmente de los M0, la mayoría fueron inferiores en valor nutricional, con excepción del M1m R250-10 que incrementó los valores de PC en todas las etapas fenológicas. Por otro lado, éste disminuyó el contenido de fibras estructurales de CEL, HEM y LIG en las etapas de crecimiento y floración. Con respecto a la etapa de latencia, este mutante redujo su contenido de CEL y aumentó la HEM. No obstante, en lignina no fue estadísticamente diferente a los pastos M0. Aunque en esta última

etapa fenológica la LIG del M1m R250-10 no haya sido diferente a los M0, éste sigue siendo superior en valor nutricional a los pastos no mutantes en todas las etapas fenológicas, ya que la hemicelulosa es más digestible que la celulosa en 50-90 y 20-80 %, respectivamente (Ramírez *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La radiación gamma en la semilla modificó algunas plantas de pasto rosado, ya que existió efecto por mutagénesis. Todos los M1m presentaron variabilidad morfológica y nutricional con respecto a los M0 en alguna de las etapas fenológicas. En específico, el pasto mutante R250-10 fue el que presentó modificaciones deseables en atributos morfológicos y nutricionales de interés agronómico con respecto al M0.

Se recomienda realizar análisis de variabilidad molecular para diferenciar genéticamente los M1m de los M0 y continuar con la reproducción y evaluación del pasto mutado R250-10 en condiciones de invernadero. Esto con el fin de monitorear que las características deseables encontradas se fijen en las generaciones siguientes. Con el resto de los M1m, se recomienda realizar mutagénesis recurrente a su semilla y continuar su evaluación bajo condiciones controladas, ya que en algunos casos la mutagénesis se ve refleja en mutantes de segunda generación o más (M2, M3...Mn).

LITERURA CITADA

- Ambavane, A. R., S. V. Sawardekar, S. A. Sawantdesai y N. B. Gokhale. 2015. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). J Radiat. Res. Appl. Sci. 8:120-125.
- Ambli, K. y L. Mullainathan. 2014. Effect of gamma rays and ems on seed germination and seed characters in pearl millet (*Pennisetum typhoides*) (Burn.) Stapf. Var. CO (Cu)-9. J. Chem. Biol. Phys. Sci. 4:3345-3349.
- Beltrán L. S., C. A. García, J. A. Hernández, C. Loredó, J. Urrutia, L. A. González y H. G. Gámez. 2010. "Navajita Cecilia" *Bouteloua gracilis* H.B.K (Lag.). nueva variedad de pasto para zonas áridas y semiáridas. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 1:127-130.
- Beltrán, L. S., C. A. García. J. A. Hernández. C. Loredó. J. Urrutia. L. A. González y H. G. Gámez. 2013. "Banderilla Diana" *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr., nueva variedad de pasto para zonas áridas y semiáridas. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 4:217-221.
- Bezabih, M., W. F. Pellikaan, A. Tolera, N. A. Khan y W. H. Hendriks. 2013. Chemical composition and in vitro total gas and methane production of forage species from the Mid Rift Valley grasslands of Ethiopia. Grass and Forage Science. 69:635-643.
- Bhattarai, K., B. S. Bushman, D. A. Johnson y J. G. Carman. 2010. Phenotypic and genetic characterization of western prairie clover collections from the western United States. Rangeland Ecol. Manage. 63: 696-706.
- Brock, R. D. 1977. Prospects and perspectives in mutation breeding. Genetic Diversity in Plants. Basic Life Sciences. 8:117-132.
- Chen, C., S. Lu, Y. Chen, Z. Wang, Y. Niu y Z. Gu. 2009. A gamma-ray-induced dwarf mutant from seeded bermudagrass and its physiological responses to drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 134:22-30.
- Díaz, A., E. Flores, A. De Luna, J. J. Luna, J. T. Frías y V. Olalde. 2012. Biomasa aérea, cantidad y calidad de semilla de *Melinis repens* (Willd.) Zizka, en Aguascalientes, México. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 3:33-47.
- Forster, B. P. y Shu, Q. Y. 2011. Plant mutagénesis in crop improvement: Basic terms and applications. En: Plant mutation breeding and biotechnology. Q. Y. Shu, B. P. Forster y H. Nakagawa. Eds. Plant Breeding and Genetics Section-Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria.

- Golublnova, I. y K. Gecheff. 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, F. J., M. Martínez, O. Serna y F. Carrete. 2012. Georreferenciación de la dieta del ganado bovino durante el período de sequía en diferentes localidades en Durango. RELC-INIFAP.
- Guiot, G. J. D., S. Salomé, A. R. Quero, A. Carballo, J. Enríquez y S. Beltrán. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto buffel (*Cenchrus ciliaris* L.). Guía Técnica Varietal. SNICS-SAGARPA. México. 1:1-22.
- Gutiérrez, G. O. 2015. Composición botánica y valor nutricional en la dieta de bovinos pastoreando un área invadida por zacate rosado [*Melinis repens* (willd.) zizka] en el estado de Chihuahua. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. México.
- Hanna, W. y E. Elsner. 1999. Registration of "TifEagle" bermudagrass. Crop Sci. 39:1258.
- Herrera-Arrieta, Y. 2001. Las Gramíneas de Durango. Primera edición. IPN-CONABIO. Durango, México.
- Horn, L. N., M. B. A. Chikelu, C. Mba, B. Soleymanne y S. N. A. Ipinge. 2010. Radiosensitivity studies in pearl millet (*Pennisetum glaucum*), cow pea (*Vigna unguiculata*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties in Namibia. Agrícola 20: 38-40.
- Jauhar, P. P. 2012. Citogenética of the *Festuca-Lolium* complex. Relevance to Breeding. Editorial Springer-Verlag. NY. USA.
- Lajonchere, G., A. R. Mesa, M. Prieto y E. Sánchez. 1995. Curva de radiosensibilidad con ⁶⁰Co en guinea (*Panicum maximum* Jacq.) cv. K-249. Revista Pastos y Forrajes. 1:35-42.
- Li, R., A. H. Bruneau y R. Qu. 2010. Morphological mutants of St. Augustinegrass induced by gamma ray irradiation. Plant Breed. 129:412-416.
- López, D. C., C. Jaramillo y F. Ghul. 2007. Estructura poblacional y variabilidad genética de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de diferentes áreas geográficas de Colombia. Biomédica. 27:28-39.
- Lu, S., Z. Wang, Y. Niu y Z. Guo. 2008. Antioxidant responses of radiation-induced dwarf mutants of bermudagrass to drought stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 133:360-366.
- Lu, S., Z. Wang, Y. Niu, Y. Chen, H. Chen, Z. Fan, J. Lin, K. Yan, Z. Guo y H. Li. 2009. Gamma-ray radiation induced dwarf mutants of turf-type bermudagrass. J. Plant Breed. 128:205-209.

- Mba, C. 2013. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. *Agronomy*. 3:200-231.
- Melgoza, C. A., M. I. Valladares, R. Mata y C. Pinedo. 2014. Biología del pasto rosado *Melinis repens* e implicaciones para su aprovechamiento o control. Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 5:429-442.
- Morales, N. C R., L Madrid, A. Melgoza, M. Martínez, S. Arévalo, Q. Rascón y P. Jurado. 2009. Análisis morfológico de la diversidad del pasto navajita [*Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Steud.], en Chihuahua, México. *Téc. Pecu. Méx.* 47:245-256.
- Núñez-Colín. C. A y D. Escobedo-López. 2011. Uso correcto del Análisis Clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *AGRONOMÍA MESOAMERICANA*. 22:415-427.
- Olasupo, F. O., C. O. Ilori, B. P. Forster y S. Bado. 2016. Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Am. J. Plant. Sci.* 7:339-35.
- Ousmane, S. D., W. Elegba y K Danso. 2013. Radio-sensibility 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.
- Petrie M. D., S. L. Collins, A. M. Swann, P. L. Ford y M. E. Litvak. 2014. Grassland to shrubland state transitions enhance carbon sequestration in the northern Chihuahuan Desert. *Global Change Biology*. 21:1226-1335.
- Pinedo, A. C., Q. N. S. Hernández, A. Melgoza, V. M. Rentería, S. V. C. Vélez, N. C. Morales, R. M. Quintana, E. E. Santellano y E. Esparza. 2013. Diagnóstico Actual y Sustentabilidad de los Pastizales del estado de Chihuahua ante el Cambio Climático. *Cuerpo Académico de Recursos Naturales y Ecología (UACH-CA16)*. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México.
- Pongtongkam, P., S. Nilratnisakorn, S. Piyachoknakul, A. Thongpan, J. Aranananth, K. Kowitwanich y S. Tadsri. 2005. Inducing salt tolerance in purple guinea grass (*Panicum maximum* TD58) via gamma irradiation and tissue culture. *Nat. Sci.* 39:681-688.
- Pongtongkam, P., S. Peyachoknagul, J. Arananant, A. Thongpan y S. Tudsri. 2006. Production of salt tolerance dwarf napier grass (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) using tissue culture and gamma irradiation. *Nat. Sci.* 40:625-633.
- Prina, A. R., A. M. Landau y M. G. Pacheco. 2011. Chimeras and mutant gene transmission. En: *Plant mutation breeding and biotechnology*. Q. Y. Shu, B. P. Forster y H. Nakagawa. Eds. *Plant breeding and genetics section-*

joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-
International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria.

- Quero, C. A. R., J. D. Guiot, S. Salinas, J. F. Enríquez, S. Beltrán, M. R. Tovar y B. Cruz. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de pasto bandera [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.]. Guía Técnica Varietal. SNICS-SAGARPA. México. 1:1-23.
- Ramírez, S., D. Domínguez, J. J. Salmerón, G. Villalobos, y J. A Ortega. Contreo en surco y etapa de madurez sobre la producción y calidad del forraje de variedades de avena. Arch. Zootec. 64:237-244.
- Romero, N., I, Leonard, J. L. Ramírez Y A. Córdova. 2013. Rendimiento y calidad de la *Clitoria ternatea* en un suelo arcilloso del estado Falcón, Venezuela. REDVET. 14:1-10.
- SAG (Sociedad Argentina de Genética). 2012. Genética y Mejoramiento Vegetal. Journal of Basic & Applied Genetics. 23:228-283.
- SAS, Institute Inc. 2006. Statistical Analysis System 9.1.3 User's guide. Cary, NC, USA.
- Songsri, P., B. Suriharn, J. Sanitchon, S. Srisawangwong y T. Kesmala. 2011. Effects of Gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). J. Biol. Sci. 11:268-274.
- Souza, L., E. D. Velini, R. C. S. Maimoni-Rodella y D. Martins. 1999. Teores de macro e micronutrientes e a relação c/n de várias espécies de plantas daninhas. Planta Daninha.17:163-167.
- Stokes, C. A., MacDonald, G. E., Adams, C. R., Langeland, K. A. & Miller D. L. (2011). Seed biology and ecology of natal grass (*Melinis repens*). Weed Sci. 59:527-532.
- Terán-Romo, A. 2010. Índice de consumo de especies *Bouteloua gracilis* y *Melinis repens* y su efecto en la composición fisicoquímica del suelo. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Victoria de Durango, Durango. México.
- Thole, V., A. Peraldi, B. Worland, P. Nicholson, J. H. Doonan y P. Vain. 2012. T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. Journal of Experimental Botany. 63:567-576.
- Van Soest, P. J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. ii. a rapid method for the determination of fiber and lignin. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46:829-835.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Ed. Comstock, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.

- Van Soest, P. J., D. G. Fox, D. R. Mertens y C. J. Sniffen. 1992. Discounts for net energy and protein-fifth revision. 4a ed. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference. Department of Animal and Avian Sciences, Cornell University. Ithaca, NY, USA.
- Watson M. E. y T. L. Galliher. 2001. Comparison of Dumas and Kjeldahl methods with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions. 32:2007-2019.
- Wilkie, K. C. B. 1979. The Hemicelluloses of Grasses and Cereals. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. 36:215-264.