



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO

CENTRO DE POSGRADO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN AGRONOMIA
MENCIÓN EN PROTECCIÓN VEGETAL**

PROYECTO FINAL DE INVESTIGACIÓN

TEMA PROPUESTO:

“MUTAGÉNESIS INDUCIDA EN *Eriochloa polystachya* MEDIANTE ETIL-METASULFONATO Y SU EFECTO SOBRE EL CONTROL DE *Mahanarva andigena* BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO”.

MAESTRANTE:

ING. AGR. ISRRAEL CORTEZ HERRERA

TUTOR

DR. JUAN CARLOS GOMEZ

CO-TUTOR

ING. AGR. EDWIN HASANG MORAN. MSc

BABAHOYO – LOS RIOS - ECUADOR

2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por permitirme llegar hasta esta etapa académica profesional, por la salud y bendiciones.

A mis padres por brindarme su apoyo de una y otra manera y por el ejemplo de perseverancia y constancia que los caracteriza.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme sabiduría, protegerme durante todo mi camino, por darme fuerza para superar obstáculos, salud y por darme bendiciones diarias las cuales me permitieron llegar a la culminación de mi trabajo.

“La responsabilidad del contenido de este trabajo le corresponde exclusivamente a su autor; y el patrimonio intelectual del mismo a la Universidad Técnica de Babahoyo”.

A handwritten signature in blue ink that reads "Israel Cortez" is written over a horizontal line. The signature is set against a light yellow rectangular background.

ING. ISRAEL CORTEZ HERRERA

Dr. Juan Carlos Gómez.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO, haber asesorado esta Tesis elaborada por el estudiante **Isrrael Cortez Herrera**; tesis de investigación previo a la obtención del título de Magister en Protección Vegetal, Mención Agronomía titulada: “**Mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero**” durante el periodo lectivo 2020 - 2021, la cual está sujeta a las normas y metodología dispuesta en el reglamento de titulación de Posgrado.

Atentamente,



MVZ. Juan Carlos Gómez Villalva, MSc.

DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Ha sido revisada en todos sus componentes, por lo que autorizo su presentación, sustentación y defensa.



Firmado electrónicamente por:
**JUAN CARLOS
GOMEZ
VILLALVA**

Dr. Juan Carlos Gómez.

DIRECTOR

Document Information

Analyzed document Tesis Israel Cortez Herrera URKUND.docx (D106114617)
Submitted 5/23/2021 4:34:00 PM
Submitted by Carlos Belezaca Pinargote
Submitter email cbelezaca@uteq.edu.ec
Similarity 7%
Analysis address cbelezaca.uteq@analysis.orkund.com

Sources included in the report

SA Israel Cortez tesis maestria.docx
Document Israel Cortez tesis maestria.docx (D105430629)

□□ 9
□□



MVZ. Juan Carlos Gómez Villalva, MSc.
DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
CC: Vicerrectorado de Investigación y Posgrado, Maestrante, Archivo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	15
SUMMARY	16
I. INTRODUCCION.....	¡Error! Marcador no definido.
II. REVISION DE LITERATURA	19
2.1. Origen y descripción general del pasto janeiro (<i>E. polystachya</i>)	19
Taxonomía del pasto janeiro.	19
Morfología del Pasto Janeiro.....	20
Valor nutritivo y fertilización de las plantas forrajeras y pasto janeiro	20
Establecimiento del pasto janeiro	21
Adaptación del Pasto Janeiro	22
2.2. Que son los insectos plagas	23
Insectos que afectan a los pastos	23
Incidencia de plagas en el pasto Janeiro.....	24
Taxonomía de <i>Mahanarva andigena</i>	24
Descripción del insecto <i>Mahanarva andigena</i>	25
Ciclo de vida del Salivazo	25
Proceso de Incubación de los huevos	27
Patrones de comportamiento y distribución espacial del salivazo.	28
Daños que ocasiona el Salivazo.....	28
Umbral de daño económico	29
Temperatura y humedad óptima para el salivazo	30
3.1. ¿Qué es la mutagenesis?.....	30
Tipos de mutaciones.....	31
Mutaciones naturales o espontaneas.....	31
Que es la mutacion inducida.....	31
Mutagenesis inducida con agentes físicos y químicos	32
Mutagénico químico Etil – meta sulfonato (EMS).....	34
Cultivos inducidos con EMS y metodologías aplicadas.	35
Impregnación y manejo del explante con el EMS.....	37
Métodos para inactivar el EMS.....	37
Medidas de seguridad empleadas al trabajar con el EMS	38
Determinación de dosis letal media DL ₅₀ de EMS en cultivos.....	39
Que es la fenologia en una planta.....	40

Caracterización para seleccionar plantas mutantes.	41
III.MATERIALES Y METODOS	43
Objetivo 1: Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagenico Etil – metasulfonato.	43
Metodología	43
Preparación del sustrato.	43
Preparación del material genético para la impregnación del EMS.	43
Impregnación y manejo del explante con el EMS.	44
Lavado e Inactivación del EMS.	44
Medidas de seguridad empleadas al trabajar con el EMS	44
Siembra del material genético.	45
Riego.	45
Variables evaluadas para el DL ₅₀	46
Porcentaje de germinación y/o prendimiento.	46
Porcentaje de mortalidad.	46
Altura de la planta.	46
Análisis estadístico	46
Factores en estudio.	46
Tratamiento	47
Diseño experimental	47
Objetivo 2: Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagenico EMS bajo condiciones de invernadero.	48
Metodología	48
Preparación del sustrato.	48
Siembra de los estolones en fundas bajo condiciones de invernadero.	48
Control de maleza.	48
Riego.	48
Variables evaluadas para el comportamiento agronómico.	49
Altura de la planta y/o estolón (m)	49
Diámetro del estolón.	49
Número de hojas por planta.	49
Largo de la hoja.	49
Ancho de la hoja.	49
Análisis estadístico	49

Objetivo 3: Seleccionar plantas mutantes del pasto Janeiro con características de resistencias al ataque del Salivazo	50
Metodología	50
Identificación de las zonas para la extracción del Salivazo.	50
Captura del insecto plaga Salivazo del tallo y del follaje.	51
Inoculación del Salivazo.	51
Variables evaluadas	51
Vigor del crecimiento	51
Número de Salivazo por tratamiento.	52
Severidad de la plaga (Salivazo).	52
Análisis estadístico	52
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	53
<i>Objetivo 1: Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagénico Etil – metasulfonato.</i>	53
a. DL ₅₀ en pasto Janeiro impregnado a 24 horas.	53
b. DL ₅₀ en pasto Janeiro impregnado a 48 horas.	54
c. Comparación de DL ₅₀ en pasto Janeiro impregnado a las 24 y 48 horas.	55
<i>Objetivo 2: Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagénico EMS bajo condiciones de invernadero.</i>	55
e. Diámetro del Tallo en pasto Janeiro	57
f. Número de hojas en pasto Janeiro.	59
g. Largo de la Hoja en Pasto Janeiro	60
h. Ancho de la Hoja del Pasto Janeiro	61
<i>Objetivo 3: Seleccionar plantas (candidatas) mutantes del pasto Janeiro con características de resistencia al ataque del Salivazo.</i>	63
i. Vigor del crecimiento.	63
j. Número de Salivazo por tratamiento a los 60 días de inoculación.....	65
k. Severidad de la plaga (Salivazo) por planta.	66
V. CONCLUSIONES	68
VI. RECOMEDACIONES	¡Error! Marcador no definido.
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	79
ANEXO 1. Imágenes sobre el estudio realizado en pasto janeiro.	79
ANEXO 3. Análisis de varianza	86
ANEXO 4. Gráficos estadísticos	93

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos en estudio aplicados en pasto janeiro.....	47
Cuadro 2. Análisis de varianza	50
Cuadro 3 Dosis de EMS en estudio	44
Cuadro 4. Escala para determinar vigor.	52
Cuadro 5. Escala para determinar severidad.	52
Cuadro 6. Altura de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	56
Cuadro 7. Diámetro del tallo de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero	58
Cuadro 8. Número de hojas hasta los 95 días (d.d.s) en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	59
Cuadro 9. Largo de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	60
Cuadro 10. Anchura de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	62
Cuadro 11. Vigor de crecimiento a los 115 días y en presencia del Salivazo, en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	64
Cuadro 12. Número de Salivazo a los 60 días después de la inoculación, en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	65
Cuadro 13. Severidad de la plaga (salivazo) por plantas a los 60 días después de la inoculación, en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cuadro comparativo de digestibilidad de forrajes	21
Figura 2. DI50 en pasto janeiro a 24 horas de impregnación.	53
Figura 3. DI50 en pasto janeiro a 48 horas de impregnación	54
Figura 4. Reactivos - EMS	79
Figura 5. Traje de protección.....	79
Figura 6. Preparación de las dosis del EMS	79
Figura 7. Altura de la planta - pasto janeiro	79
Figura 8. Desarrollo en bandejas germinadoras	79
Figura 9. Estolones impregnados 24 horas.....	79
Figura 10. Siembra de los estolones impregnados con EMS.	79
Figura 11. Extracción del EMS	79
Figura 12. Campana extractora de gases	79
Figura 13. Búsqueda del Insecto - Bucay	80
Figura 14. Ancho de la hoja.....	80
Figura 15. Largo de la hoja.....	80
Figura 16. Medición altura de la planta.....	80
Figura 17. Pasto Janeiro bajo invernadero.....	80
Figura 18. Trasplante del pasto Janeiro	80
Figura 19. llenado de fundas - trasplante.....	80
Figura 20. Desarrollo a los 30 días	80
Figura 21. Altura de los estolones - Janeiro	80
Figura 22. Inoculación de ninfas en pasto janeiro	81
Figura 23. Conteo de las Ninfas	81
Figura 24. Ninfas de salivazo	81
Figura 25. Presencia de Salivazo en diversas plantas y tratamientos.	81
Figura 26. Conteo de ninfas en pasto janeiro	81
Figura 27. Evaluación de vigor.....	81

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Fuente: Altura a los 50 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	93
Grafico 2. Fuente: Altura a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero	93
Grafico 3. Fuente: Altura a los 80 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 4. Fuente: Altura a los 95 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 5. Fuente: Número de hojas a los 50 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 6. Fuente: Número de hojas a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 7. Fuente: Número de hojas a los 80 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 8. Fuente: Número de hojas a los 95 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 9. Fuente: Diámetro del tallo a los 50 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 10. Fuente: Diámetro del tallo a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.....	94

Grafico 11. Fuente: Diámetro del tallo a los 80 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.....	94
Grafico 12. Fuente: Diámetro del tallo a los 95 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.....	94
Grafico 13. Fuente: Largo de la hoja a los 50 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 14. Fuente: Largo de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 15. Fuente: Largo de la hoja a los 80 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 16. Fuente: Largo de la hoja a los 95 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 17. Fuente: Ancho de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 18. Fuente: Ancho de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 19. Fuente: Ancho de la hoja a los 80 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 20. Fuente: Ancho de la hoja a los 95 días con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 21. Fuente: Vigor del crecimiento con mutagénesis inducida en <i>Eriochloa polystachya</i> mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94

Grafico 22. Fuente: Numero de salivazo en pasto janeiro con mutagénesis inducida mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94
Grafico 23. Fuente: Severidad de la plaga en pasto janeiro inducida mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de <i>Mahanarva andigena</i> bajo condiciones de invernadero.	94

RESUMEN

A través del mejoramiento genético se pueden adquirir especies de vegetales mejoradas, siendo la mutagénesis inducida una de las técnicas empleadas, para ello se utiliza el metano sulfonato de etilo como agente químico. El pasto janeiro *Eriochloa polystachya* pertenece a las *Poaceas*, distribuida por todo América del Sur con alto valor nutritivo y de gran importancia para la alimentación del ganado de la misma manera presenta susceptibilidad a insectos plagas como el Salivazo. Por lo tanto, el objetivo de este proyecto de investigación fue Evaluar el efecto del Etil – metasulfonato en *E. polystachya* al ataque del Salivazo bajo condiciones de invernadero. Se utilizó la metodología de diseño experimental, el pasto fue sembrado por estolones en bandejas germinadoras para determinar el DL 50. La información fue analizada mediante el Diseño Completo al Azar, con regresión lineal Probit en diez tratamientos y tres repeticiones, donde la variable porcentaje de mortalidad presento alta significancia. Luego se evaluó el comportamiento agronómico que presento el pasto janeiro impregnado con las diferentes dosis y a diferentes tiempos, para ello se tomaron datos como altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, ancho y largo de la hoja, la información fue analizadas a través de InfoStat, cuyas presentaron alta significancia. Finalmente se seleccionó plantas de pasto Janeiro con características de resistencia al ataque de salivazo, para lo cual se utilizó descriptores que nos permitieron registrar el número de salivazo, severidad y el vigor del crecimiento. Los resultados obtenidos mostraron en la regresión lineal que el DL 50 a 24 horas se ajustó a dosis de 0,49 % EMS mientras que a 48 horas fue de 0,32 %, presentando un mejor $R^2 = 79,62$. Por otra parte en el comportamiento agronómico se evidencio que el T3 con dosis de 0.50 % y a 24 horas junto con el T7 con dosis de 0,25 % a 48 horas, presentaron alta significancia y fueron estadísticamente superior a los demás tratamientos en estudio. Respecto a selección del pasto janeiro tolerante al ataque del Salivazo, se observó que el tratamiento T5 y T10 cuyas dosis fueron al 1% de concentración de EMS, manifestaron menor número de salivazos presentes, por lo tanto, fueron tratamientos que no presentaron ningún daño. Por el contrario, los tratamientos con menor dosis de EMS mostraron daños leves y moderados, con poblaciones de salivazo menor a 20 individuos.

Palabras claves: Mutagénesis, Etil-metanosulfonato, Pasto Janeiro, DL₅₀, Estolones, Inducida, Salivazo, Insecto, Invernadero.

SUMMARY

Through genetic improvement, improved plant species can be acquired, with induced mutagenesis being one of the techniques used, for which ethyl methane sulfonate is used as a chemical agent. The Janeiro grass *Eriochloa polystachya* belongs to the Poaceas, distributed throughout South America with high nutritional value and of great importance for livestock feeding, in the same way, it is susceptible to insect pests such as Spittlebug. Therefore, the objective of this research project was to evaluate the effect of Ethyl-Methosulfonate in *E. polystachya* to the attack of Spittlebug under greenhouse conditions. The experimental design methodology was used, the grass was sown by stolons in germinating trays to determine the LD 50. The information was analyzed through the Complete Random Design, with Probit linear regression in ten treatments and three repetitions, where the percentage variable of mortality presented high significance. Then the agronomic behavior presented by the Janeiro grass impregnated with the different doses and at different times was evaluated, for this, data such as plant height, stem diameter, number of leaves, width and length of the leaf were taken, the information was analyzed at through InfoStat, which presented high significance. Finally, Janeiro grass plants with characteristics of resistance to spittle attack were selected, for which descriptors were used that allowed us to record the number of spittlebugs, severity and growth vigor. The results obtained showed in the linear regression that the LD 50 at 24 hours was adjusted to a dose of 0.49% EMS while at 48 hours it was 0.32%, presenting a better $R^2 = 79.62$. On the other hand, in the agronomic behavior, it was evidenced that T3 with doses of 0.50% and at 24 hours together with T7 with doses of 0.25% at 48 hours, presented high significance and were statistically superior to the other treatments under study. Regarding the selection of Janeiro grass tolerant to the attack of Spittlebug, it was observed that the treatment T5 and T10 whose doses were at 1% concentration of EMS, showed a lower number of spittlebugs present, therefore, they were treatments that did not present any damage. In contrast, treatments with a lower dose of EMS showed mild and moderate damage, with spittlebug populations of less than 20 individuals.

Keywords: Mutagenesis, Ethyl-methanesulfonate, Janeiro Grass, LD50, Stolons, Induced, Spittlebug, Insect, Greenhouse.

I. INTRODUCCIÓN

Mediante el mejoramiento genético de especies vegetales se pueden obtener individuos con características mejoradas, satisfaciendo las necesidades agrícolas (Nakayama, *et al* 2018). Una de las técnicas es la mutagénesis inducida mediante agente químico. El mutagénico químico más empleado es el metano sulfonato de etilo (EMS) con el que es probable producir la tolerancia relacionada a los agentes fito y entomopatógenos. (Rojas, Collado, & Leon, 2016).

El IAEA citado por Geraldino (2018) menciona que la mutagénesis inducida es una práctica efectiva desde mediados del siglo XX; se estima de más de 3200 variedades vegetales obtenidas por medio de la mutagénesis inducida. Suarez (2006) citado por Vargas (2016) indica que entre los beneficios del agente químico (EMS) es la alta tasa de mutaciones puntuales, a diferencia de las radiaciones ionizantes; siendo fundamental la obtención de la dosis letal media (DL_{50}) para inducir mutaciones.

Álvarez, *et al* (2019) manifiesta que la dosis letal media (DL_{50}) es un parámetro que nos permite elegir la dosis de irradiación o agente químico adecuada, para inducir mutaciones en programas de mejoramiento genético vegetal. Cubero (2003) citado por Soralez Cubas (2015) indica que la capacidad mutagénico del metano sulfonato de etilo (EMS) en semillas o estolones, se mide a través (DL_{50}) que es la dosis apropiada para obtener un 50% de mortalidad en los individuos.

Los pastos pueden ser mejorados genéticamente, pudiendo tener características favorables o desfavorables, en altura de planta, emisión foliar, área foliar, grosor de los tallos y producción. Entre ellos tenemos a *Eriochloa polystachya* (pasto janeiro) (Benítez *et al*, 2017) es una especie perenne que presenta un alto nivel de palatabilidad para el ganado, es decir que tienen una buena aceptación por los animales y un gran valor nutritivo (proteína). Los animales que consumen este pasto llegan a registrar ganancias diarias de 0,5 kilos de peso vivo (Martinez, 2019).

Los pastos se ven afectados por diferentes factores a corto y largo plazo, especialmente por incidencia de insectos plagas y enfermedades, que generan pérdidas económicas. Las enfermedades comunes que afectan al pasto son la roya (*Puccinia*

graminis), la mancha púrpura (*Helminthosporium sacchari*) y la mancha parda (*Cercospora o Rhizoctonia*) (Fonseca, 2017); el salivazo o cigarrita (*Mahanarva andigena* Jacobi) insecto plaga que afecta a los pastizales (De la Cruz & Cajilema, 2015).

El daño causado por el salivazo es severo, generando su ataque una reducción drástica de Proteína cruda (PC) en hojas de pastos, pasando de 7.4% en plantas sanas a 2.3% en plantas infestadas y una pérdida de 82% en la producción de forraje Calderón *et al.*, (1982) citado por Holmann & Peck, (2018). Por lo que es fundamental la obtención de pastos tolerantes al ataque de insectos plagas a partir de mutagénesis inducida con agentes químico (EMS).

Por lo antes expuesto la presente investigación tiene como objetivo principal de evaluar el efecto del Etil – metasulfonato en *E. polystachya* al ataque del Salivazo bajo condiciones de invernadero. Los objetivos específicos del estudio fueron: a) Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagénico Etil – metasulfonato, b) Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagénico EMS bajo condiciones de invernadero, c) Seleccionar plantas mutantes del pasto Janeiro con características de resistencias al ataque del Salivazo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen y descripción general del pasto janeiro (*E. polystachya*)

El pasto Janeiro es nativo de Sudamérica tropical, Centro América y el Caribe. En el Ecuador se desarrolla bajo de la Cuenca del Río Guayas, en las provincias de: El Oro, Guayas y Los Ríos. También se lo encuentra, pero en menor grado en las ganaderías intensivas de la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas. Es considerado de buen valor nutritivo por su alto contenido de proteína cruda de 15,20 % a los 28 días y su descenso es mínimo con la edad. La digestibilidad de la materia seca va de 52 a 47%, lo que lo hace apetecido por parte del ganado (INIAP, 1989)

Enríquez, Hernández *et al* (2015) citado por Gómez Villalva *et al.*, (2020) manifestaron que el pasto Janeiro se desarrolla en áreas con humedad o en zonas bajas, donde en épocas lluviosas permanecen con una lámina de agua, presenta poca resistencia a la época seca y tiene una buena recuperación posteriormente a la quema. Posea unas raíces profundas, promueve abundantes rizomas dando como resultado capas gruesas. A su vez se caracteriza por producir insuficiente semilla fértil y con baja viabilidad, por lo que su propagación se realiza con tallos y rizomas.

Álava y Carriel (2014) citado por Contreras (2019) indican que el pasto janeiro *Eriochloa polystachya* es una variedad con buen desarrollo y se multiplica vegetativamente, es de crecimiento vertiginoso, se considera que a dos meses de cultivo puede llegar a cubrir el terreno estableciendo un pastoso colchón, de la misma manera esta especie produce tallos decumbentes, genera vainas y nudos, las panículas.

Taxonomía del pasto janeiro.

Martínez Vilorio, (2019) detalla la siguiente descripción taxonómica del pasto Janeiro:

Reino: Plantae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Paniceae

Género: *Eriochloa*

Especie: *E. polystachya*

Morfología del Pasto Janeiro.

Cepeda (2016) expresa que es una Poaceae perenne, con tallos de manera decumbentes. Su inflorescencia se forma a partir de panículas donde las espiguillas con infértiles. Suelen desarrollarse y macollar bien cuando se encuentran aislada, pudiendo llegar a emitir tallos gruesos y jugosos 2 m de longitud. Produce suficiente hoja y se encuentran de manera alternadas no pubescentes. Las raíces son exuberantes y respectivamente superficiales.

INIAP (1989) detalla que el pasto janeiro es de crecimiento rastrero y estolonífero, que puede alcanzar una altura de hasta 1.20 m dependiendo de condiciones y exigencia del pasto, tiene una buena producción de hojas de forma lanceolada de aproximadamente 20-25 cm de largo y de 8-10 mm de ancho. Produce semillas, pero de muy baja viabilidad y presenta tallos huecos.

Rendon (2011) menciona que el pasto Janeiro (*Echinochloa polystachya* H.B.K.) puede presentar géneros, entre aquellos cultivares se encuentran las *Echinochloa coloniao* L, y se caracteriza por ser un pasto anual con una altura de 90 cm, la cantidad de proteína que puede llegar a ofrecer es de 13,8% a las cuatro semanas, la *Echinochloa frumentacea* Roxb, es otra gramínea anual.

Valor nutritivo y fertilización de las plantas forrajeras y pasto janeiro

Riera (2019) indica que los principios nutricionales de un forraje se deduce por su fuerza calórica o energética, resultados que se obtienen mediante el análisis los forrajes basándose en los requerimientos energéticos diarios del animal, los cuales dependerán de la especie, edad, estado de desarrollo, producción de trabajo, grasa, leche etc., comprender las necesidades permitirá programar la dieta alimenticia óptima para el animal y conocer si es suficiente para cubrir las necesidades nutritivas demandadas.

Bernal (2003) citado por Briones (2016) indica que el pasto janeiro es un alimento indispensable para la nutrición bovina, ya que aporta con un 5 % al 14 % de proteína bruta

y 65 % de digestibilidad. La fertilización imperceptible (del elemento en kg/ha) N 50; P₂O₅: 45,8, K₂O 18; MgO: 24,75; SO₄ 44,86. Se obtiene ventajas con fertilizante de base (N, P, K) a los 6-8 meses después de establecido. Es fundamental realizar rotación de potreros, conociendo al sistema de pastoreo y el tiempo requerido ya que no lignifica y los animales despliegan a consumir por encima de lo normal, se puede pastorear cada 45 días.

Digestibilidad y calidad de los pastos

La digestibilidad de todos los pastos dependerá su composición celular y, más precisamente, de las características químicas de cada forraje en estudio. Las células vegetales están constituidas por una fracción correspondiente al contenido celular y otra a la pared celular. El contenido celular posee un 98% de digestibilidad en promedio. Mientras que las digestibilidad en una pared celular varía dependiendo de la proporción de hemicelulosa, celulosa y lignina (Gonzalez, 2017).

INTAGRI (2018) expresa que las gramíneas pueden contener un 3% de proteína cruda, mientras que en una gramínea tropical puede alcanzar un 30% vajo condicioneones de clima templado. En técnicas usuales el contenido de celulosa suele ser de 20 a 30% del elemento seco, en tanto que las hemicelulosas pueden variar entre 10 y 30 %. Los fructanos y azúcares que son los principales carbohidratos de las gramíneas poseen un contenido muy variable entre 2.5 y 30 % de la materia seca. Por otra parte, podemos encontrar en forma de proteínas ciertos compuestos nitrogenados siendo los cuales pueden ascender o descender a medida que van madurando. En los pastos las condiciones para el crecimiento deben ser favorables, debido a que el contenido de nitrógeno no proteico variara según el estado fisiológico de las plantas. En el caso de las leguminosas estas presentan un promedio del 56% de digestibilidad, comparando con un valor medio para templadas de 61%.

Forraje	Pared celular (% MS)	Hemicelulosa (% MS)	Celulosa (% MS)	Lignina (% MS)
Leguminosas				
Alfalfa	51	11	29	11
Trébol rojo	66	17	39	10
Gramíneas C3				
Cebadilla	64	26	32	5
Pasto ovilla	55	25	25	4
Festuca	54	23	26	4
Gramíneas C4				
Cencrus	66	35	24	5
Bermuda	76	39	29	6
Pangola	68	26	33	8
Guinea	66	24	33	5

Figura 1. Cuadro comparativo de digestibilidad de forrajes

Establecimiento del pasto janeiro

Bernal (2003) citado por Moran (2019) señala que el pasto janeiro se puede cultivar por medio de material vegetativo y se elaboran surco con medidas aproximadas de 50 cm donde se colocaran los estolones. Calderero (2011) citado por Moran (2019) indica que, otro de los métodos utilizados para establecimiento de un pastizal de forma rápida, es mediante la distribución de los estolones al voleo y consecutivamente pisotearlo para lograr que estos sean enterrados siendo un método muy práctico y ahorrativo. Carriel (2014) citado por Moran (2019) menciona que durante las primeras lluvias se debe realizar la siembra de los pastos, realizando anticipadamente la preparación de suelo con la ayuda de maquinarias.

Adaptación del Pasto Janeiro

El pasto puede desarrollarse y adaptarse a temperaturas entre los 21-27 °C con climas sub tropicales y tropicales, obteniendo un mejor crecimiento en ambientes cálidos y húmedos. Los requerimientos de suelos, mal drenados o en las riberas de los ríos entre 0-1 200 msnm, priorizando que sean de aluvión, franco-arcillosos, francos-humosos; de medianas a alta fertilidad, inundables, pudiendo sembrarse para pasto de corte o formación de potreros (Peralta, 2016).

Bernal (2003) citado por Briones (2016) indica las siguientes características:

Origen: Países centroamericanos

Usos: pastoreo, corte y ensilaje

Suelos: húmedos, fértiles, inundables; con pH 4,0- 8,0

Altitud: 0-1 200 msnm.

Temperatura: 21-27 °C

Luz: demandante de luz, no tolera heladas

Precipitación: 1 000-3 500 mm/ año.

Siembra: generalmente por cepas y tallos (maduros)

Producción: desde 18 ton/ha/año – 120 ton/ha / año en estado verde con fertilización.

2.2. Que son los insectos plagas

Paker (1987) citado por la Universidad Autónoma de Ciudad (2012) detalla que las plagas de insectos pueden ser activadas en ciertas épocas o todo el año. Una población de insectos se considera plaga cuando reduce la cantidad o calidad de los alimentos y los forrajes. La velocidad con la que se reproducen varía, pero la mayoría se reproducen con bastante rapidez, y llegan a causar daño en árboles de producción agrícola o forestal.

Los insectos son considerados como una especie de animales invertebrados artrópodos que cuentan con seis patas. Poseen un cuerpo dividido por fragmento a los cuales se unen diferentes apéndices, presentan contenidos de quitina fundamental para el desprendimiento de la muda sucesiva. Las principales clases dentro de este grupo son los crustáceos, los arácnidos, los miriápodos y los insectos, diferenciándose estos últimos del resto por tener el cuerpo dividido en tres regiones (cabeza, torax y abdomen), y poseer un par de antenas, dos de alas y tres pares de patas (Poveda, 2018).

Insectos que afectan a los pastos

Las larvas suelen habitar en los terrenos, las cuales cortan las plántulas para alimentarse ocasionado daños y obstrucciones a nivel de tejidos vasculares. Los Crisomélidos (Vaquitas o catarinas) son unos de los insectos que afectan a los pastos incluyendo al orden Coleóptero. Dependiendo del estado de metamorfosis el insecto se alimentará de las raíces o tallos y de las hojas principalmente si son leguminosas. El insecto que ocasiona el salivazo o baba de culebra es un cercópido, del orden Homóptera, es considerada como la principal plaga de las gramíneas forrajeras, beneficiándolo las condiciones climáticas, las diferentes especies de gramíneas y las grandes coberturas de pastos siendo estos los factores de gran importancia que han contribuido a su proliferación (Elizondo Salazar, 2004).

Quijano (2014) menciona que las condiciones climáticas como la lluvia y sequía que se dan en el transcurso del año, son apropiadas para el ataque de los insectos en los pastos. Uno de éstos es el gusano de otoño (*Spodoptera frugiperda*) y se lo puede identificar por presentar un color marrón con rayas azules finas en el dorso y varias líneas amarillo-verdosas en los lados. Este insecto consume gran cantidad de yerba pudiendo llegar a

afectar la alimentación del ganado y la producción de forrajes conservados en forma de heno o ensilaje. De igual manera el chinche de los pastos (*Blissus leucopterus*) genera daños en estación seca, aun mas si los terrenos son arenosos. El ataque de la chinche se lo puede identificar por originar manchas amarillas circulares, ocasionado que se empiece a secar del centro hacia fuera. El insecto se puede localizar entre la hojarasca de las yerbas que no han sido aún afectadas. Finalmente se encuentra el pulgón amarillo (*Sipha flava*) el cual se caracteriza por afectar los pastos durante la sequía.

Elizondo Salazar (2004) indica que la gran parte de los insectos que afectan a los pastos se caracterizan por presentar una metamorfosis incompleta donde el huevo fértil al eclosionar da origen a una ninfa y luego de cumplir aquella fase ninfal ocurre una muda y surge el insecto adulto. Cabe indicar que la presencia de los estadios de las ninfas tiene una forma similar a los adultos. Al momento que emergen estas buscan lugares húmedos y sombreadas como las bases de las plantas, alimentándose de los rebrotes y estolones. Algunos de estos insectos producen una espuma o fluido que les permite protegerse de la desecación y de enemigos naturales, ya que en mucho de los casos pueden morir al exponerse a la radiación solar o zonas desérticas.

Incidencia de plagas en el pasto Janeiro.

Muchos de los pastos cultivados son susceptibles al ataque de insectos plagas, que afectan el rendimiento y ocasionan pérdidas económicas. Entre los principales se encuentra el salivazo (*Mahanarva andigena*). Afecta a todas las *brachiarias*, pasto estrella, pasto guinea, pasto alemán y cultivos como maíz y caña de azúcar. La ninfa extrae la savia de las raíces y del tallo, tiene el aspecto de saliva o espuma. El adulto se alimenta de la savia de la parte superior de las hojas al mismo tiempo que inyecta sustancias tóxicas a la planta, causando amarillamiento y marchitez, su tamaño oscila entre 7 a 8 mm. (INATEC, 2016).

Taxonomía de *Mahanarva andigena*

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Homóptera

Familia: Cercopidae

Géneros: *Mahanarva*

Especie: *M. andigena*

Nombre binomial de la Amazonía: Salivazo (Macas, 2018).

Descripción del insecto *Mahanarva andigena*

Valle, Iparraguirre, & Caicedo, (2018) manifiestan que las ninfas y adultos de *M. andigena* en Colombia y Ecuador, “exhiben un comportamiento aéreo, siendo común que se puedan observar los diferentes instares ninfales en una sola masa de espuma”, localizada dentro del cogollo de la planta. Este aspecto las distingue de las demás especies de salivazo hasta la fecha estudiadas, convirtiéndose en una característica propia del género *Mahanarva* y que tiene implicaciones en las tácticas de manejo establecidas hasta el momento, tendientes a disminuir el impacto de esta plaga en campo.

Perez, Perez, & Alvarez (2018) expresan que el salivazo está considerado como uno de los que genera alto índice destructivo, se localiza desde Centro América hasta la parte norte de Sudamérica. El perjuicio que induce en la planta de caña de azúcar, *Saccharum officinarum L* (Poales: *Poaceae*), se les atribuye a sus estadios ninfales 4 y 5, cuando se alimenta del tallo y la raíz. En estado adulto puede alimentarse de las hojas en la cual inyecta sustancias tóxicas que generan manchas rojizas o amarillentas que finalmente se pierde por secamiento. Por lo tanto los daños no causa muerte del pasto pero si reduce las cosechas de hasta un 15 y 80%.

Ciclo de vida del Salivazo

Ortiz López (2018) menciona que durante su período de existencia este insecto pasa por tres fases de desarrollo, huevo, ninfa, adulto. En estado adulto la hembra coloca los huevos en el suelo y hojas de pasto que caen al suelo, luego entre los 16 a 18 días después nacen las ninfas, una por huevo, quienes inmediatamente asciende a la planta afectando especialmente los cogollos y succionan sabia para alimentarse y se protegen con un líquido viscoso de la desecación. El estadio ninfal dura aproximadamente 60 días y durante esa fase pueden cambiar hasta cuatro veces de piel.

Rodríguez (2003) indica que en la investigación sobre la biología del salivazo establecieron una duración promedio de cada una de las fases de desarrollo según metodologías establecidas previamente (Rodríguez et al. 2002). Para los huevos, se emplearon 100 huevos de < 1 2 horas de edad para infestar en materas individuales establecidas como en la descripción de la colonia. El paso de un instar a otro se determinó mediante observación directa de la ninfa o de la exuvia. Para los adultos se emplearon 40 adultos tenerales. Se calculó la longevidad promedio para cada una de las cuatro fases de desarrollo de los huevos, los cinco instares y los sexos de los adultos.

Huevos

Carreño (2016) expresa que los huevos son de dimensiones pequeñas, pudiendo ser colocados los extremos de las vainas que presentan las hojas maduras adheridas al tallo. Los huevos depositados presenta una coloración blanco-cremoso, consecutivamente van adquiriendo un color amarillo con una mancha oscura a los laterales del huevo, que corresponde al opérculo del mismo. Cumplido la fase de huevo se pueden apreciar antes de eclosionar unos puntos rojizos que indican los ojos y manchas que se visualiza luego en el abdomen las ninfas recién eclosionadas. Los huevos tienen una forma fusiforme y pueden medir 1,3 mm de largo por 0,4 mm de ancho, en mucho de los casos la ovoposición puede ser individualmente o en grupos irregulares donde el periodo de incubación es de 16 a 18 días.

Ninfas

Torres (2016) indica que después de la eclosión, las ninfas de los primeros instares tienen el cuerpo amarillo y la cabeza rojiza, pero a medida que crece está cambiando de coloración, mostrando al final una coloración crema con Pigmentos rojos en los lados del abdomen. En Ecuador, la duración del período ninfal de *M. andigena* es de 38 a 65 días debido a las variaciones climáticas y épocas del año. Generalmente las ninfas pequeñas se localizan en el cogollo y las ninfas medianas y grandes debajo de las venas que se encuentran separadas ligeramente del tallo. Las ninfas forman una masa de espuma que constituye el hábitat necesario para la supervivencia.

El periodo ninfal comprende cinco instares, con una duración promedio de 8 a 14 días, cada instar. El periodo ninfal total tiene una duración de 51 días en promedio, con una variación de 38 a 65 días. Las ninfas recién eclosionadas se dirigen hacia el cogollo, donde se localizan alimentándose de la savia y permaneciendo cubiertas de una masa espumosa que ellas elaboran, que las protege de la desecación y de algunos enemigos naturales (Mendoza , Mejía, & Gualle, 2004).

Adultos

Calle (2013) expresa que el adulto permanece inmóvil durante varias horas dentro de la masa espumosa. Al estar en contacto con el aire, el cuerpo y las alas van adquiriendo lentamente su coloración normal por oxidación de sus pigmentos. Los adultos de salivazo (*M. andigena*) exhibieron un dimorfismo sexual expresado por el mayor tamaño de las hembras en cada uno de los caracteres morfológicos. El macho mide de 11 mm de largo y 5 mm de ancho y presenta una coloración que va de castaño oscura a negro, con dos manchas transversales de color amarillo intermitentes, distanciadas una de la otra de forma que dividen a las alas en tres partes iguales. La hembra es ligeramente más grande que el macho, con 13 mm de largo y 6,5 mm de ancho y presenta una coloración castaña y manchas amarillas más estrechas y menos definidas.

Proceso de Incubación de los huevos

Para este caso no se recolectó huevos, pero contamos con este procedimiento de incubación la cual consiste en recolectar los huevos generados por la fecundación de los adultos, luego se desarrollaría una metodología de cría que permitiría obtener las ninfas. Esta consiste en recolectar los huevos con ayuda de una pinza de punta fina. Los huevos obtenidos serían sometidos a un proceso de desinfección y lavado para ser colocados en un recipiente con una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0,5% de concentración a partir del producto comercial (v/v), durante dos minutos, y enjuagarlos tres veces en agua destilada. Posteriormente se colocarían en una caja petri sobre papel filtro húmedo y se realizarían observaciones diarias para determinar el periodo de incubación, la fertilidad y los cambios morfométricos (forma, tamaño y color). Las ninfas recién eclosionadas se separarían y se procede a colocar en las raíces superficiales del pasto janeiro (CINCAE, 2014).

Patrones de comportamiento y distribución espacial del salivazo.

Las ninfas del salivazo permanecen estáticas y cubiertas de espuma que se localizan en las raíces y tallos de las plantas. Los adultos tienen vida libre y buena capacidad de movilidad, son malos voladores y se desplazan principalmente mediante saltos; su mecanismo de defensa es la habilidad de saltar y la autohemorragia (Peck, 2003; Rodríguez *et al.* 2003) citado por Cajilima Arcos (2009) manifiestan que la dinámica poblacional del salivazo está influenciada principalmente por condiciones climáticas. Los primeros insectos aparecen pocos días después del inicio de las lluvias y se prolongan durante todo el período lluvioso, apareciendo picos de ninfas y adultos de manera escalonada y superpuestas; se pueden presentar muchas generaciones por año si existen condiciones de humedad en el suelo, o cuando existe un mal drenaje (Vargas, 1970; Guagluimi, 1972; Fontes *et al.* 1995; Martin *et al.* 1995; SESA, 2003) citado por (Cajilima Arcos, 2009).

Daños que ocasiona el Salivazo

Lucia Cuarán (2013) menciona que las ninfas de salivazo recién emergidas se alimentan de brotes jóvenes y del contenido de las células del parénquima de las raíces jóvenes. Después del segundo ínstar se alimentan del proto y meta-xilema de las raíces que ya han desarrollado este tejido, el cual contiene nutrientes fáciles de digerir, como los compuestos nitrogenados. Las ninfas introducen su estilete hasta que alcanzan los haces vasculares, en consecuencia, estos se deterioran por perder grandes cantidades de savia, restringiendo así el paso de nutrientes a las partes aéreas de la planta. La savia del xilema contiene sales inorgánicas de nitrógeno, fósforo, potasio y calcio, así como varios aminoácidos y azúcares que son ricos y fáciles de adquirir. Para obtener una dieta adecuada las ninfas tienen que ingerir grandes cantidades de esta savia, lo cual implica la pérdida de un gran volumen de agua.

El desarrollo del *homóptero* se ve favorecido por la alta humedad relativa que caracteriza a la provincia de Pastaza, y provoca grandes pérdidas económicas a los productores de caña. El daño es causado por la fase adulta del insecto que para alimentarse perfora y succiona las partes verdes del “cogollo”. Es la típica intoxicación sistemática llamada

“quemado de las hojas” que reduce el crecimiento de la planta y en casos extremos la seca por completo (De la Cruz & Cajilima, 2015).

El daño que los salivazos ocasionan a las plantas, está dado por la succión de la savia, tanto de ninfas como de adultos, ocasionando debilitamiento de las plantas, disminución en el rendimiento, pérdidas en la calidad del follaje, reducción en la palatabilidad y disminución en el contenido de nitrógeno y azufre en las hojas atacadas. Además, los adultos también inyectan saliva tóxica a las plantas, provocando la muerte de la hoja (Giraldo, Reyes, & Molina, 2011) citado por Ulloa Briones (2016). El daño más importante lo hacen los adultos, pues a más de succionar la savia inyectan sustancias tóxicas que provocan un desorden fisiológico en las hojas. Estos síntomas se manifiestan por la presencia de lesiones amarillentas alrededor de la picadura, que gradualmente se alargan y más tarde adquieren un color castaño-pardo y necrótico, dando un aspecto de “quemazón” del follaje. En la planta la tasa de respiración se incrementa y la translocación se reduce, lo que resulta en un desequilibrio entre estas funciones fisiológicas. Altas infestaciones pueden causar la muerte de las plantas (Mendoza, Mejía, & Gualle, 2004) citado por (Ulloa Briones, 2016).

Umbral de daño económico

El nivel de población del salivazo que puede causar una reducción en la producción de caña de azúcar y efectos en la rentabilidad del cultivo, ocurre cuando en los sitios de evaluación se registra algunas de estas situaciones: Mas de 50 adultos/trampas capturados, más de 0,2 adultos/tallos observados por cepas y más de 0,2 espumas/tallo observadas por cepas (Bustillo & Castro, 2011).

Cetino (2008) citado por Calle (2013) menciona que en los últimos años el salivazo se ha considerado como una de las plagas de mayor importancia económica en el cultivo de la caña de azúcar. Se estima una reducción en la producción alrededor del 9.33 % (11 t/ha). Según el CINCAE (2012) las pérdidas en el país llegan al 34 % en sacarosa, al nivel de fábrica, lo cual implica un aumento en el contenido de fibra e inversión de sacarosa en glucosa y fructuosa.

Temperatura y humedad óptima para el salivazo

El factor más influyente en la eclosión de huevos de mosca pinta fue la precipitación, ya que incrementó la supervivencia y redujo los tiempos de desarrollo de los huevos. Las combinaciones que favorecen la eclosión de huevos son las que resultan de la combinación de la aplicación de humedad con cualquier temperatura probada (20 a 35 °C). La combinación que más favorece el desarrollo de los huevos es la que resulta de la combinación de 35 °C con humedad 100%. En el caso de los tratamientos con humedad, hay un ligero incremento en la eclosión mientras que cuando no hay humedad la respuesta es opuesta, es decir, hay una disminución en la eclosión; está claramente que la humedad del suelo es vital para la eclosión de los huevos de esta plaga (Lopez J. , 2004).

3.1.¿Qué es la mutagénesis?

Rojas (2015) expresa que se define una mutación como una alteración producida en la estructura o en el número de genes o de los cromosomas del material genético de un organismo vivo. Estas pueden producirse de manera natural o pueden inducirse artificialmente. La inducción de mutaciones ha resultado ser un método eficaz para lograr variaciones deseadas dentro de un cultivo, aunque este haya perdido esas características durante su proceso de selección y domesticación. Con esta técnica se desea generar variación, pero mantener la mayor cantidad de características del material promisorio. Es por eso que actualmente cuando se habla de inducción de mutaciones se hace referencia a mutaciones que cambian un solo gen, también llamadas mutaciones de punto.

Hernández & Pedraza (2019) indican que la mutagénesis es una herramienta importante en la generación de variedades de plantas ornamentales. Hasta 2017, se registraron más de 700 variedades en la base de datos de variedades mutantes de la agencia conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, y la Agencia Internacional de Energía Atómica. El germoplasma nativo de México se ha utilizado para generar diversas variedades de plantas mutantes en el extranjero. De *Dahlia* se han registrado 18 variedades y se ha generado una gran cantidad de formas mutantes en Asia y Europa, mientras que de *Polianthes* se han desarrollado formas mutantes en Irán y la India, y de *Helianthus* se han desarrollado 569 formas mutantes en Bulgaria. A pesar de que la inducción de mutaciones ha demostrado ser un método

eficiente en la generación de variedades de plantas ornamentales, en México no se ha logrado registrar variedades ornamentales, y son escasos los trabajos reportados, entre los que se encuentran reportes de inducción de mutaciones en especies como *Tigridia pavonia*, *P. tuberosa*, *Euphorbia pulcherrima*, *Dendranthema grandiflora*, *H. annuus* y *Laelia autumnalis*.

Tipos de mutaciones

En la actualidad existen dos soluciones para inducir variabilidad genética en la mejora genética de especies cultivadas. La primera de ellas es aumentar las tasas de mutaciones naturales en el DNA mediante el uso de mutágenos químicos o físicos. Se generan así miles de nuevas mutaciones al azar, que posteriormente debemos de rastrear para identificar y seleccionar las variantes que nos interesan. Las mutaciones inducidas son iguales que las naturales, por lo que las variedades que se generan a partir de mutaciones inducidas se pueden registrar como variedades tradicionales (Manzano *et al.*, 2017).

Mutaciones naturales o espontáneas

La mutación espontáneas es una fuente continua de alteraciones aleatorias de la información contenida en el material genético. La evolución adaptativa se nutre de las mutaciones que afectan a la expresión fenotípica de los caracteres, pero éstas sólo son favorecidas por la selección natural si determinan un aumento de la eficacia biológica de sus portadores, definida como la contribución de descendencia a la siguiente generación (López-Fanjul, 1986) citado por (Velásquez, 2013). Las principales causas de las mutaciones que se producen de forma natural o normal en las poblaciones son tres: los errores durante la replicación del ADN. Las lesiones o daños fortuitos en el ADN. La movilización en el genoma de los elementos genéticos transponibles (Velásquez, 2013).

Que es la mutacion inducida

Carey (2011) citado por Valarezo Pacheco (2015) manifiesta que existe un gran número de agentes que inducen mutaciones, las cuales se atribuyen a causas ambientales conocidas, estas pueden contrastarse con las mutaciones espontáneas, que nacen de

manera natural durante el proceso de replicación del ADN. Los agentes que provocan mutaciones inducidas se denominan mutágenos.

Belmonte (2020) indica que dentro de la clasificación de las mutaciones existen diferentes tipos y uno de ellos es la mutación inducida que es cualquier cambio permanente que se produce en la secuencia o en la organización del material genético de una célula debido a causas externas a esa célula. Las mutaciones inducidas son alteraciones producto de diferentes causas. Estas causas o agentes se denominan, en general, mutágenos. En la naturaleza existen multitud de mutágenos, que los investigadores clasifican en tres grupos dependiendo de su origen: mutágenos químicos (sustancias capaces de modificar el ADN), mutágenos físicos (que suelen ser radiaciones) y mutágenos biológicos (seres vivos que son capaces de provocar un cambio en el ADN de otra célula).

Mutagenesis inducida con agentes físicos y químicos

Messmer, Wilbois, & Baier (2015) mencionan que a menudo las nuevas características en las especies vegetales aparecen por mutación, es decir, por cambios en el Ácido Desoxirribonucleico (ADN). Las mutaciones pueden ocurrir de forma espontánea durante la división de las células (p.ej.: por errores en la replicación del ADN) o provocadas de forma artificial por estímulos físicos (p.ej.: Rayos UV, shocks de frío o calor, Rayos X, Irradiación con Neutrones) o por sustancias químicas (p.ej.: Metasulfonato de Etilo). Para inducir mutaciones se utilizan de la planta (semillas, polen, tubérculos o brotes) o plantas enteras que se exponen a los agentes apropiados con el fin de aumentar la tasa de mutación. Mientras que la mutagénesis química ocasiona principalmente mutaciones puntuales (cambios de bases de ADN individuales), en la radiación ionizante aparecen rupturas cromosómicas.

Gómez Villalva, et al (2020) manifiestan que de acuerdo con los resultados obtenidos durante la inducción de mutagénesis con rayos gamma, se determinó que las dosis de radiación que debe aplicarse a estolones de pasto janeiro propagados directamente en el campo para inducir variabilidad, se ubican entre 42 y 50 Gy. Las dosis de radiación absorbidas tuvieron efecto directo en el establecimiento de los estolones y en la altura de las plantas de janeiro, pues ambas variables presentaron altos índices de reducción con dosis superiores a 75 Gy. La DL50 se ubicó entre 42 y 52 Gy.

Que es la mutacion inducida con agente fisico

Novak & Brunner (1992) expresa que en estos casos pueden emplearse agentes mutágenos, como la radiación para inducir mutaciones y generar variaciones genéticas de las cuales puedan seleccionarse los mutantes deseados. La inducción de mutaciones ha resultado ser un método eficaz para lograr variaciones dentro de un tipo de cultivo, ya que ofrece la posibilidad de inducir características deseadas que no se pueden hallar en la naturaleza o se han perdido durante el proceso evolutivo. La inducción artificial de mutaciones por medio de la radiación ionizante data de principios del siglo XX, pero no fue hasta unos 30 años después que se demostró que estas transformaciones podían emplearse en la fitotecnia. En los intentos iniciales para inducir mutaciones en las plantas se utilizó fundamentalmente la técnica de rayos X: más tarde en los comienzos de la “era atómica”, se emplearon las radiaciones gamma y de neutrones, ya que estos tipos de radiación ionizante podían obtenerse fácilmente en los centros de investigación nuclear recién creados.

La mutagénesis inducida es una técnica recién revalidada en el mundo, que, junto con el mejoramiento clásico, puede acelerar de manera considerable el proceso de mejora del cultivo. El Instituto de Genética Ewald Albert Favret (del INTA Castelar), se han obtenido variedades de arroz, maní y limón, a través del uso de radiación X. Mientras que, por otro lado, en ciertas plantas ornamentales, la técnica también ha sido ampliamente utilizada, y en la actualidad, existen más de 600 cultivares comerciales en géneros como *Chrysanthemum*, *Alstroemeria*, *Dahlia*, *Bougainvillea*, *Rosa*, *Achimenes*, *Begonia*, *Dianthus*, *Streptocarpus* y *Rhododendron*. En el Instituto de Floricultura del INTA Castelar trabaja en la mejora de plantas nativas con potencial ornamental y recientemente ha incorporado en sus planes la utilización de radiación X, con el objeto de generar variación en materiales élite que han sido mejorados en condiciones ambientales de la región (Bologna, 2011).

Que es la mutagénesis inducida con agentes químicos.

Prina *et al.*, (2010) mencionan que las primeras investigaciones sobre la capacidad mutagénica de las sustancias químicas datan de principios del siglo pasado, pero su uso en fitomejoramiento se concretó muchos años después a través de los trabajos que

facilitaron el uso al disminuir los requerimientos en equipamientos e instalaciones. Los tratamientos con radiaciones ionizantes donde las moléculas son afectadas indiscriminadamente, los mutágenos químicos suelen ser más específicos. Los mutágenos químicos que más se han utilizado en fitomejoramiento son los agentes alquilantes, denominados así por incorporar grupos alquilo a las macromoléculas. A este grupo pertenecen los alquil alcanos sulfonatos, como el etil metano sulfonato (EMS) y el metil metano sulfonato (MMS), los dialquil sulfatos, como el dimetilsulfato (DMS) y el dietilsulfato (DES); y los compuestos nitrosos, como la N-metil-N-nitroso-urea (MNU o MNH) y la N-etil-N-nitrosourea (ENU).

Jankowicz & Till (2016) mencionan que la mutagénesis química proporciona una forma económica y directa de generar una alta densidad de diversidad de nucleótidos novedosa en los genomas de plantas y animales. Por lo tanto, la mutagénesis puede usarse para estudios genómicos funcionales y también para el fitomejoramiento. El mutágeno químico más utilizado en las plantas es el metanosulfonato de etilo (EMS). Se ha demostrado que EMS induce principalmente mutaciones de punto base único. Cientos a miles de mutaciones hereditarias pueden ser inducidas en una sola línea de planta. Por lo tanto, se necesita un número relativamente pequeño de plantas para producir poblaciones que alberguen alelos perjudiciales en la mayoría de los genes. Las poblaciones de plantas mutagenizadas por EMS pueden seleccionarse fenotípicamente (genética avanzada).

Mutagénico químico Etil – meta sulfonato (EMS)

Costa Ortiz, (2017) menciona que el EMS o etilmetanosulfonato es un éster del ácido metanosulfónico con propiedades de mutágeno. Causa mutaciones puntuales por sustitución de nucleótidos, con una tasa de 5×10^{-4} a 5×10^{-2} por gen. Las mutaciones que causa son en su mayoría alquilaciones en las guaninas causando errores en la replicación y transiciones puesto que la ADN polimerasa sustituye la introducción de citosina como complementaria de la guanina, por timina. En un segundo ciclo de replicación entonces se encontrará un par de bases complementarias adenina- timina en lugar de citosina-guanina.

El mutágeno químico que más se ha utilizado es el EMS, que habitualmente se asume como productor de mutaciones de punto del tipo transición G/C a A/T. En relación a esto

es interesante advertir que hay 5 aminoácidos que en sus codones sólo tienen G o C en posiciones sinónimas, por ejemplo, lisina (AAA o AAG) y tirosina (UAU o UAC), por lo que no podrían ser cambiados por otros aminoácidos mediante transiciones del tipo G/C a A/T. Un mutágeno muy eficiente en algunas plantas cultivadas, como cebada, arveja, trigo y arroz, es la azida sódica. Esta droga no es de por sí mutagénica sino que necesita de la vía de la síntesis de L-cisteína para transformarse en el metabolito mutagénico azido-alanina. La azida no se ha visto como mutagénica en mamíferos y por lo tanto desde el punto de vista de la bioseguridad, no sería peligrosa como mutágeno en humanos, más allá de su reconocida toxicidad como veneno e la respiración oxidativa. Actualmente, las técnicas de TILLING están aportando una enorme cantidad de información sobre el efecto molecular de los mutágenos. Esto ha permitido detectar que más del 50 % de las mutaciones inducidas por EMS o azida sódica son de sentido cambiado, y más del 20 % son mutaciones silenciosas. En términos generales aplicando estos agentes en varias plantas cultivadas se han identificado polimorfismos en nucleótidos simples (SNPs) con una frecuencia que va de 1/50 a 1/500 kb (Prina *et al.*, 2010).

Cultivos inducidos con EMS y metodologías aplicadas.

Se ha utilizado la inducción de mutaciones con EMS en diversos estudios. Ejemplo de ello es la investigación llevada a cabo por Jander *et al.* (2003), en la cual se indujo mutaciones con EMS en plantas de *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*). Esta investigación tuvo por objetivo determinar la frecuencia de inducción de mutaciones que otorgan tolerancia a herbicidas de los grupos glicinas (glifosato), sulfonilureas (clorosulfuron) e imidazolinonas (imazetapyr). Otro ejemplo de inducción de mutaciones con EMS en programas de mejoramiento ha sido el de proporcionar tolerancia a enfermedades, tal es el caso del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*), donde a través de la inducción de mutaciones con EMS se encontró tolerancia al virus común del mosaico (BCMV) (Isasi y Busto 1981) (Vargas C. , 2016).

La invención pertenece al campo técnico de la cría de frijol y se refiere particularmente a un método para crear un mutante de frijol rojo mediante el uso de un agente mutagénico EMS (sulfato de etileno) y la aplicación del mismo. El método comprende pasos de pretratamiento de semillas, tratamiento de mutagénesis y cultivo de siembra, en donde el

paso del tratamiento de mutagénesis comprende pasos de remojar alternativamente semillas estériles en un regulador de crecimiento de plantas y una solución EMS 0.01-0.05%, en donde el tiempo de remojo del regulador de crecimiento de plantas es de 5-10 minutos, el tiempo de remojo de la solución EMS es dos veces mayor que el del regulador de crecimiento de la planta (Ximing & Yunli , 2018).

En trabajos de investigación realizados por Rojas *et al* (2016) indican que las semillas de frijol se trataron con diferentes concentraciones de metano sulfonato de etilo (0, 20, 30, 40, 50, 60 mM) y se sembraron en bolsas de polietileno que contenían 4 kg de sustrato. El metano sulfonato de etilo influyo en diferentes etapas de desarrollo del cultivo que fueron analizadas.

Castillo Martínez *et al* (2015) mencionaron que se realizó una investigación enfocada a modificar características en la pigmentación de follaje, flor y arquitectura en plantas de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*), a través de agentes mutagénicos físicos y químicos. Segmentos foliares de aproximadamente 1cm² provenientes de plántulas micropropagadas se colocaron en cajas petri con medio MS líquido con pH de 5.8 al cual se le agregó 0.2% v/v de etil metano-sulfonato (EMS). Los explantes fueron expuestos a este agente químico por tiempos de: 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 min. El agente químico mutagénico produjo mayor número de mutantes que el físico. Los tres mutantes obtenidos presentaron persistencia.

Rajabi, Gharib, & Kamal (2016) expresaron que se estudió rasgos de plantas mutantes de Menta utilizando mutagénesis EMS de mutágeno, por lo tanto, se realizó investigación in vitro y campo con 4 tratamientos y 4 repeticiones en un diseño completamente al azar. De diferentes tratamientos EMS incluye 0/0% (grupo control), 0/05% y 0/01% y 0/005% y para diferentes tiempos (24 y 48). La evaluación se realizó en un tubo de ensayo y simultáneamente en la granja. Después de la transferencia y el desarrollo de sujetos en condiciones in vitro, se estudió el tratamiento con el mutágeno etil metanosulfonato.

Kulmi, Mogali, & Patil (2017) expresan que la reproducción de nuevas variedades mutantes con un mayor potencial de rendimiento será la fuerza impulsora para enfrentar los desafíos del siglo XXI. Se aislaron mutantes de alto rendimiento de la progenie M3 de las variedades de linaza Indira Alsi y NL-115 tratadas con EMS al 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 y

0,5%. Datos sobre varios rasgos cuantitativos, tales como altura de la planta, número de ramas primarias por planta, número de ramas secundarias por planta, número de cápsulas por planta, número de semillas por cápsulas, peso de 1000 semillas (g), rendimiento de semillas (g) por planta, se registraron 10 mutantes superiores en la generación M3. Los mutantes eran morfológicamente bastante distintos, en comparación con el control y entre sí. El cambio más notable fue el aumento en el número de ramas secundarias y el número de cápsulas de estos mutantes, dándoles un alto rendimiento en comparación con el control.

Impregnación y manejo del explante con el EMS.

Pankhurst *et al.*, (2004) citado por León García (2016) el cual explica que el EMS debe ser manejado muy cuidadosamente.

1. Se emplearon 125 semillas por cada concentración (20, 30, 40, 50, 60 mM) de EMS y se introdujeron en frascos Erlenmeyers estériles de 300 ml de capacidad.
2. En los Erlenmeyers con las semillas, se les adicionó 150 ml de la solución de EMS con agua desionizada estéril (v/v) a una concentración definida. Los frascos se colocaron a 22 °C de temperatura, en agitación circular constante a 112 rpm por 16 horas.
3. Se descartó la solución y se enjuagaron las semillas tratadas 10 veces con agua destilada, cada enjuague se realizó por un tiempo de 5 minutos.
4. Las semillas tratadas y un control de semillas sin tratar, se sembraron en bolsas con 4 kg de sustrato (80% de materia orgánica y 20% de Zeolita) a una densidad de siembra de 5 semillas/bolsas.

Métodos para inactivar el EMS.

US National Library of Medicine (2016) citado por León García (2016) menciona el metodo para inactivar el EMS:

1. La solución mutagénica, incluido las aguas de lavado pueden ser inactivadas adicionándoles una solución de tiosulfato de sodio hasta una concentración final del 10%, además para aumentar el pH se añade suavemente Hidróxido de sodio hasta una concentración final del 1%, esta solución se deja reposar toda la noche para una total descomposición del mutágeno.

2. Para descontaminar la cristalería e instrumentos metálicos inicialmente se prepara una solución compuesta por tiosulfato de sodio al 10% e hidróxido de sodio al 1%, posteriormente se sumergen en esta solución durante toda la noche.

3. El material desechable (guantes, papel, plásticos etc.) puede ser incinerado, de lo contrario pueden ser expuesto a la solución de tiosulfato 10% e hidróxido de sodio 1% para ser descontaminados.

Otra vía de inactivación es utilizar una solución de NaOH al 1M, el procedimiento es similar a los anteriormente explicados, pero utilizando esta solución, también se puede utilizar NaOH a 2M (US National Library of Medicine, 2016).

Medidas de seguridad empleadas al trabajar con el EMS

Según León García (2016) aplicó las siguientes medidas de seguridad para el uso del EMS en el cultivo de Frijol, por lo cual se detalla lo siguiente:

Al ser un agente alquilante que es altamente tóxico y carcinógeno debido a sus propiedades mutagénicas, se debe tener en cuenta una serie de medidas para su manipulación ya que es fundamental para la salud humana. Es necesario tener en cuenta que una manipulación del mutágeno con miedo excesivo puede ser peligrosa pues esto supera al comportamiento racional y el riesgo de accidentes puede aumentar.

1. Es obligatorio el uso de guantes mientras estemos manipulando el mutágeno químico, los guantes de látex deben usarse dobles pues estos no son totalmente impermeables. Aun cuando trabajemos detrás de una superficie transparente, ya sea en una campana extractora de gases o en una cabina protegida se deben usar gafas o cubiertas protectoras para los ojos.

2. Los guantes no protegen totalmente (aun usándolos doble) contra el reactivo mutágeno y las diluciones que se deriven de este, por lo que nunca deben estar en contacto directo con ellos. Se deben cambiar con frecuencia e ir almacenándolos en una bolsa señalada para su posterior incineración o descontaminación

3. Los frascos que contienen el agente alquilante (EMS) o diluciones de este se deben abrir siempre dentro de la campana extractora de gases, que ya debe estar funcionando, para evitar la inhalación de los vapores tóxicos.

4. Volumen de EMS que se vaya a usar debe ser tomado cuidadosamente para no contaminar la micropipeta, para mayor seguridad este debe ser descontaminada una vez

finalizado el trabajo. Es necesario señalar que el volumen requerido se haya calculado anteriormente para evitar demoras.

5. La superficie donde se vaya a trabajar con el mutágeno se debe cubrir con papel de filtro fijado con cinta adhesiva de modo que al finalizar se pueda recoger y en él vaya cualquier derramamiento del reactivo o soluciones preparadas con este, posteriormente se introduce el papel de filtro en la bolsa de los desechos señalada.

6. Una vez preparada las diluciones estas deben ser vertidas cuidadosamente en el frasco donde se encuentra el material vegetal para evitar salpicaduras. Una vez añadida la disolución del mutágeno el frasco debes ser tapado con parafilm. Es importante señalar que siempre es más seguro en el caso de semillas, colocarlas primero en el frasco y después añadir el mutágeno, de lo contrario hay más probabilidades de producirse salpicaduras.

7. Una vez concluido el tratamiento con la disolución del mutágeno, se debe decantar el remanente o eliminar con una pipeta. Inmediatamente se debe lavar el material vegetal con agua destilada para eliminar los remanentes del mutágeno.

8. El contacto directo con el material mutagenizado debe ser evitado, incluso cuando se usan guantes. Para la siembra se aconseja el uso de algún utensilio como pinzas.

Determinación de dosis letal media DL₅₀ de EMS en cultivos

Benjavad, Shahrokhifar, & Benjavad (2012) indican que, en este estudio sobre el cultivo de arroz, las semillas del genotipo potencial de la variedad popular, (*O. sativa* L. spp. Indica cv. MR219) fueron tratados con EMS a concentraciones de 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1%, 1.25%, 1.5% y 2%. La sensibilidad al EMS se determinó mediante diversas mediciones en la generación M1. A medida que aumenta la concentración de EMS aplicado, se observó una disminución en la germinación, la altura de la plántula, la longitud de la raíz y la emergencia en condiciones de campo en la generación de M1 en comparación con el control sin tratamiento. La altura de la planta y la longitud de la raíz también disminuyeron con los aumentos en la mutagénesis EMS de una manera aproximadamente lineal. Los valores LD25 y LD50 se observaron en base a la reducción del crecimiento de las plántulas después del tratamiento con EMS con 0.25% y 0.50% en la variedad de arroz (*O. sativa*. spp. Indica cv. MR219).

Vargas, Gómez, & Hernando (2000) manifiestan que mediante el uso de la técnica de los sistemas in vitro, se estudió los efectos del EMS en meristemos de plátano Dominico Hartón y Hartón Común con el propósito de buscar la dosis óptima y realizar finalmente un tratamiento masivo en los meristemos de estos clones. Se elaboró un diseño completamente al azar (igual número de tratamientos a variedades por dosis), haciendo un análisis descriptivo y no estadístico de los resultados obtenidos. Se evaluaron 192 meristemos tanto de Dominico Hartón y de Hartón Común utilizando concentraciones de 0%, 0.30%, 0.60%, 0.90%, 1.20%, y 1.50% EMS. Se llevaron a cabo 4 evaluaciones. Las variables a estudiar fueron el número de meristemos sobrevivientes, incremento en el número de brotes y peso fresco. Para obtener la dosis óptima del EMS se tuvo en cuenta aquella dosis que redujera en un 50% el incremento del peso fresco con respecto al testigo. Costa Ortiz (2017) expresa que los explantos de *Romanesco* (alcachofa) fueron sometidos a diferentes concentraciones del mutágeno (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5%) y se mantuvieron en contacto con el mutágeno durante 30 minutos. Tras este periodo los explantos se pasaron a medio de cultivo sin mutágeno y se calculó el porcentaje de brotación, así como el porcentaje de explantos que resultaban necrosados tras el tratamiento. La CL50 o concentración letal 50, se define como la concentración de la muestra que causa una mortalidad del 50% en la población en estudio y se expresa en mg/l. El cálculo de la CL50 nos permitirá entonces establecer una concentración adecuada para lanzar el experimento.

Que es la fenología en una planta

Portillo (2018) menciona que la fenología estudia las fechas por las que comienzan las diferentes fases del desarrollo de las plantas. De esta forma se van registrando en un orden cronológico y se realizan observaciones para analizar las interacciones con otros seres vivos. Las observaciones se van haciendo a lo largo de todo el año y se va registrando para tener una memoria fiable sobre el ciclo de vida de los organismos estudiados. Los datos cuantitativos relacionados con el desarrollo vegetal también se estudian. Esto se refiere a comparar el aumento de tamaño que ha experimentado la planta en cuestión, su peso, volumen, rendimiento en la fotosíntesis y la composición química.

Yzarra y López (2011) citado por Cobos (2018) señalan que el método usado para evaluar el comportamiento fenológico de ciertas especies es a través de la Observación fenológica, que hace referencia a contar el número de plantas que han alcanzado una

determinada fase en una fecha exacta; es decir se debe evidenciar un día de inicio de la fase fenológica. En general estas fases son primordialmente: vegetativa, reproductiva, visible y no visible, dependiendo la especie.

Flórez (2018) expresa que la fenología de plantas involucra la observación, registro e interpretación de eventos tales como la producción de hojas, flores y frutos; y el estudio de los factores bióticos y abióticos que los ocasionan o los afectan. Hay cuatro formas principales para estudiar las fases fenológicas. La primera es utilizar trampas de frutos (e.g. rectángulos de tela porosa de área conocida), monitorear las plantas a lo largo de transectos o líneas de muestreo, revisar todos los individuos en parcelas de vegetación de área conocida y marcar varios (ca. 6-10) individuos de las especies de interés.

Caracterización para seleccionar plantas mutantes.

Un estudio realizado por Chen, *et al.*, (2020) en cultivo de maní para determinar sus efectos sobre los rasgos agronómicos, de rendimiento y de calidad con EMS. Indicaron que los mutantes se detectaron mediante la observación visual de las plantas durante todo el ciclo de crecimiento de la planta en cada generación. Se registró la variación fenotípica visual en el rendimiento del crecimiento y la morfología de las hojas y se tomaron fotografías para documentar la comparación entre mutantes y su control. Después de la cosecha, se registraron la altura de la planta, el número de ramas y el número total de vainas por mutante o control. Las vainas se recolectaron de las plantas parentales y luego se secaron. Se contó el número total de vainas (NPT) por planta. Se determinó el peso de veinte vainas completas de cada planta. Después de retirar las cáscaras de las vainas, se determinó el peso de veinte semillas completas muestreadas de cada planta. El peso de 100 vainas (HPW) y el peso de 100 granos (HKW) se calcularon como cinco veces el peso de veinte vainas llenas y veinte semillas completas, respectivamente.

En un estudio realizado por (Shirasawa, Hirakawa, & Nunome, 2015) en cultivo de tomate con EMS detallan que, entre los cuatro mutantes EMS, detectamos un total de 4690 mutaciones, incluidas 4629 SNV (98,7%), 47 mutaciones por delección (1,0%) y 14 inserciones (0,3%), en todo el genoma. Las densidades medias de los SNV, mutaciones por delección e inserciones fueron 1 SNV / 0,8 Mb, 1 delección / 81 Mb y 1 inserción / 271 Mb. Excepto por 92 mutaciones en SL2.40ch00, 3836 y 762 se ubicaron en las regiones

de heterocromatina (1 mutación / 0,6 Mb) y eucromatina (1 mutación / 1,0 Mb), respectivamente. Los SNV consistieron en 3209 transiciones C / G a T / A (69,3%), 596 transversiones A / T a T / A (12,9%), 437 transversiones C / G a A / T (9,4%) y 246 A / Transiciones de T a G / C (5,3%), seguidas de las transversiones de 86 A / T a C / G (1,9%) y las transversiones de 55 C / G a G / C (1,2%). La razón de transiciones a transversiones fue de 2.9. La indel más frecuente observada fue una delección de 1 pb (23/47, 48,9%), seguida de una delección de 2 pb (8/47, 17,0%), y la más larga fue una delección de 17 pb en el conjunto masivo EMS C_1. El número de mutaciones en cada genoma mutante osciló entre 409 en el conjunto masivo EMS C_2 y 2720 en TOMJPE6018_1 con densidades que van desde 1 mutación / 2,3 Mb a 1 mutación / 349 kb, distribuidas por todo el genoma.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, relacionada con la colección y siembra del pasto janeiro mutagénico, estuvo comprendió por tres objetivos los cuales fueron desarrollados a nivel de laboratorio e invernadero en los predios de la Granja “San Pablo” de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el Km. 7½ de la vía Babahoyo – Montalvo, con altitud de 8 metros sobre el nivel del mar. Coordenadas X: -1,799621, - Y: 79,473936. La zona presenta un clima tropical húmedo, con temperatura media de 25,6 °C, precipitación anual de 2 329 mm, humedad relativa de 82 % y 987 horas de heliofanía de promedio anual. (Molina, 2020)

Objetivo 1: Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagénico Etil – metasulfonato.

Metodología

En este estudio se utilizó la especie de pasto Janeiro provenientes del material recolectado en los terrenos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias FACIAG-UTB.

Preparación del sustrato.

Se preparó un sustrato que contenía 60% de suelo agrícola, 30% de materia orgánica y 10% ceniza para ser utilizado en el llenado de las 10 bandejas de germinación las cuales contenían 162 hoyos.

Preparación del material genético para la impregnación del EMS.

Los estolones del pasto Janeiro fueron colectados de un lote de multiplicación que existe en la FACIAG – UTB. Los estolones median 5 cm de altura aproximadamente; el mismo que presentaron una sola yema, los cuales fueron limpiado y desinfectados con agua destilada estéril (tres enjuagues). Luego se sumergieron en una solución compuesta de azoxistrobina + difeconazole (fungicidas) por 15 minutos previo a la impregnación y siembra (Gómez *et al.*, 2020).

Impregnación y manejo del explante con el EMS.

Para la impregnación se aplicó la metodología establecida por Pankhurst *et al.*, (2004) citado por Leon Garcia (2016) el cual explica que el EMS debe ser manejado muy cuidadosamente. Para realizar la impregnación en el laboratorio de Biología Molecular se aplicó el protocolo propuesto con algunas modificaciones:

Se usaron aproximadamente 2 000 estolones de janeiro y en cada concentración (0,00%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00%) de EMS se introdujeron 200 estolones dentro de vasos transparentes estériles con capacidad de 1 000 ml y estuvieron sumergidos a 24 horas y a 48 horas. En los vasos con los estolones, se le adiciono agua desionizada estéril (v/v) a una concentración definida, estos fueron colocados a temperatura ambiente. Finalmente se retiró la solución y se enjuagaron los estolones tratados, 5 veces con agua destilada, cada enjuague se realizó por un tiempo de 15 minutos.

Cuadro 1 Dosis impregnadas con EMS

Dosis EMS (Soluta)	Solvente H₂O
10 ml (1%)	1000 ml
7,5 ml (0.75%)	1000 ml
5 ml (0.5%)	1000 ml
2,5 ml (0.25%)	1000 ml
0 ml (0%)	1000 ml

Lavado e Inactivación del EMS.

Se preparó Hidróxido de sodio a una concentración final del 1%, en esa solución fue sumergido cada tratamiento (estolones impregnados con EMS) en un tiempo de 30 min dejando reposar para una total descomposición del mutágeno.

Luego se procedió a retirar el NaOH y se enjuagaron los estolones 3 veces con agua destilada durante 15 min, estando preparados para la siembra.

Medidas de seguridad empleadas al trabajar con el EMS

De acuerdo a lo desarrollado por León García (2016) en su investigación se aplicó las siguientes medidas de seguridad para el uso del EMS en las medidas de seguridad.

El EMS al ser un agente alquilante tóxico y carcinógeno se tuvo en cuenta una serie de medidas para su manipulación las cuales fue fundamental precautelar la salud humana.

1. Fue obligatorio el uso de guantes mientras se estuvo manipulando el mutágeno químico, se utilizaron dobles guantes de vinilo. El trabajo se lo realizó en una campana extractora de gases o en una cabina protegida con cubiertas protectoras para los ojos.
2. Se utilizó un traje para protegernos ante cualquier derrame del producto y una máscara con filtro, para impedir el paso de los gases hacia nuestro sistema respiratorio.
3. Previo al uso del EMS se realizó un mantenimiento y revisión de la campana extractora de gases, para asegurar el funcionamiento correcto.
4. Los residuos fueron almacenados en un recipiente y sellados para posterior trabajo.
5. Los frascos que contienen el agente alquilante (EMS) o diluciones fueron abiertos siempre dentro de la campana extractora de gases.
6. El volumen de EMS que se utilizó fue tomado cuidadosamente para no contaminar la micropipeta y el volumen requerido, se calculó previamente para evitar demoras.
7. La superficie donde se trabajó con el mutágeno fue cubierto con papel filtro y fijado con cinta adhesiva de modo que al finalizar se recogió y en él vaya cualquier derramamiento del reactivo.
8. Una vez preparada las diluciones estas fueron vertidas cuidadosamente en el frasco donde se encuentra el material vegetal para evitar salpicaduras y añadida la disolución del mutágeno el frasco fue tapado con parafilm.

Siembra del material genético.

Los estolones tratados con EMS y los controles sin tratar, se sembraron en las bandejas germinadoras las cuales fueron previamente preparada con sustrato el mismo que fue manejado a nivel de invernadero para luego determinar dosis media letal (DL₅₀).

Riego.

Esta labor se desarrolló cada dos días la cual dependió de la humedad del sustrato y la evaporación, para ello se utilizó tanques y baldes que nos permitieron cumplir la labor. Esto se realizó tanto en las bandejas germinadoras con los estolones ya tratados. Y durante desarrollo de las plántulas en fundas.

Variables evaluadas para el DL₅₀.

Porcentaje de germinación y/o prendimiento.

Luego de haber sido tratado los estolones con el EMS y sus respectivas dosis se procedió a evaluar el porcentaje de germinación (prendimiento) a los 10, 20 y 30 días. Su resultado se expresó en porcentaje de estolones germinados.

El porcentaje de prendimiento se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ prendimiento} = \frac{\text{N}^\circ. \text{ de estolones sembrados} - \text{N}^\circ. \text{ Estolones muertos} \times 100}{\text{N}^\circ. \text{ De estolones sembrados}}$$

Porcentaje de mortalidad.

El porcentaje de mortalidad se determinó a los 10, 20 y 30 días, considerando como mortalidad a los estolones que no prendieron.

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{N}^\circ. \text{ De estolones sembrados} - \text{N}^\circ. \text{ Estolones vivos} \times 100}{\text{N}^\circ. \text{ De estolones sembrados}}$$

Altura de la planta.

Se evaluó la altura del estolón a los 10, 20 y 30 días del pasto Janeiro sometidas a los diferentes tratamientos y repeticiones. Para ello se utilizó un flexómetro numérico con unidades en mm, cm y m. la altura se expresó en cm, se midió la altura desde el suelo hasta la inserción de la última hoja apical del estolón.

Análisis estadístico

Factores en estudio.

En este estudio se realizaron diez tratamientos donde se utilizaron cuatro dosis de EMS sometidas a dos tiempos de impregnación de los estolones. El detalle de los tratamientos se menciona en el cuadro 2.

Tratamientos

Cuadro 2. Tratamientos en estudio aplicados en pasto janeiro

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES DE EMS (%)	HORAS
T1	0,00%	24
T2	0,25%	24
T3	0,50%	24
T4	0,75%	24
T5	1,00%	24
T6	0,00%	48
T7	0,25%	48
T8	0,50%	48
T9	0,75%	48
T10	1,00%	48

En este estudio se consideró lo siguiente:

Una Variedad de pasto Janeiro

Cuatro dosis de Agente mutagénico incluyendo un control: 0,00 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00% con dos tiempos de inmersión del material vegetal en la solución mutagénico: 24 y 48 horas.

Diseño experimental

Los datos fueron a analizados en un Diseño Completo al Azar con diez tratamientos y tres repeticiones, para determinar la significancia estadística entre las medias de los tratamientos, se realizó una regresión lineal Probit al cual se lo analizo mediante el software (Staff Graphic) aplicando el modelo aditivo lineal

$$Y = a + bx$$

Donde:

Y= Variables dependiente

a= pendiente

x= Variables independiente

b= Intersección

Objetivo 2: Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagenico EMS bajo condiciones de invernadero.

Metodología

Para este objetivo se tomaron los estolones impregnados con el EMS y se desarrolló el estudio a nivel de invernadero para determinar el comportamiento agronómico a los 50, 65, 80 y 95 días.

Preparación del sustrato.

Se preparó un sustrato que contenía 60% de suelo agrícola, 30% de materia orgánica y 10% de cascarilla de arroz quemado. El sustrato fue manejado a nivel de invernadero, donde se distribuido en fundas.

Siembra de los estolones en fundas bajo condiciones de invernadero.

Una vez transcurrido los 30 días de evaluación para determinar DL_{50} , se procedió a trasplantar los estolones a fundas definitivas, con la finalidad de cumplir con el segundo (Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagénico EMS bajo condiciones de invernadero). Para ellos fue necesario el uso de fundas de vivero perforadas de 34 cm de largo por 23 cm de ancho y separadas por tratamientos.

Control de maleza.

El control de maleza se la realizó semanalmente de manera manual en cada uno de los tratamientos en estudio.

Riego

Se utilizó un balde de 40 litros para realizar el riego en el área de estudio, cada funda con su planta de janeiro fue regada.

VARIABLES EVALUADAS PARA EL COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO.

Altura de la planta y/o estolón (m)

Para el caso del pasto Janeiro se midió la altura en diez plantas a los 50, 65, 80 y 95 días desde la base hasta la parte apical y su resultado se expresó en metros. Como material de medición se utilizó un flexómetro.

Diámetro del estolón.

Se registró el diámetro de los estolones tratados en diez plantas de cada tratamiento a los 50, 65, 80 y 95 días, con la ayuda de una cinta y su resultado se establecieron en mm.

Número de hojas por planta.

Para los estolones del pasto Janeiro, esta variable se evaluó en diez plantas contando todas las hojas que presentó el pasto en cada tratamiento a los 50, 65, 80 y 95 días.

Largo de la hoja.

Se midió el largo de la hoja a los 50, 65, 80 y 95 días en diez plantas de cada tratamiento en estudio, para ello se tomó la tercera hoja y se utilizó una regla cuya unidad se expresó en cm.

Ancho de la hoja.

Fue medido a los 50, 65, 80 y 95 días en diez plantas de cada tratamiento, de la misma manera se registró el ancho en la tercera hoja, su unidad se expresó en cm y se utilizó una regla para realizar la respectiva medición.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados en un Diseño Completo al Azar con diez tratamientos, para determinar la significancia estadística, entre las medias de los tratamientos. Se aplicó la prueba de Tukey al 95% de probabilidad y se utilizó el software (**InfoStat**), empleando el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor estimado de la variable.

μ : Media general

T_i : Efecto del i-esimo tratamiento

E_{ij} : Efecto del error experimental en el i-esimo tratamiento y el j-esima repetición.

Cuadro 3. Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	9
Repeticiones	9
E. Exp.	81
Total	99

3.1. Objetivo 3: Seleccionar plantas mutantes de pasto Janeiro con características de resistencias al ataque de Salivazo.

Metodología

Para cumplir con este objetivo se utilizaron descriptores que nos permitieron determinar las posibles plantas mutantes con mayor y menor desarrollo fisiológico, de la misma manera definir el efecto del salivazo sobre el pasto janeiro.

Identificación de las zonas para la extracción del Salivazo.

Para la extracción del salivazo se identificó las zonas Vía Naranjito - Bucay que como áreas vulnerables al ataque de salivazo en pasto janeiro por las condiciones climáticas, entre las cuales se visitó la Hacienda La Victoria del propietario Loren Olsen, donde se

hizo la recolección respectiva del insecto para inocular las ninfas en el pasto sometido a las diferentes dosis y tiempo de impregnación del EMS.

Captura del insecto plaga Salivazo del tallo y del follaje.

La recaudación de ninfas consistió en seleccionar las áreas afectadas por el salivazo que, con la ayuda de los colaboradores de la Hacienda, se logró identificar y recolectar las ninfas al azar junto con el material vegetal afectado. En el área se recogieron las ninfas contenidas en las masas de espuma, normalmente localizadas en las raíces superficiales o parte basal de las gramíneas. Fueron movilizados de la zona de Bucay hacia el cantón Babahoyo en recipientes con abundante tierra húmeda para evitar que el pasto pierda turgencia y de esta manera las ninfa se mantenga durante el traslado (Castro & Morales, 2005).

Inoculación del Salivazo.

Una vez trasplantadas las plántulas de pasto Janeiro en las fundas y habiendo cumplido los 50 días de desarrollo fisiológico fueron inoculadas con las ninfas del insecto plaga Salivazo, siendo colocadas directamente sobre las plantas del pasto janeiro al azar. Cada tratamiento contenía un número de 5 ninfas, es decir que el área en estudio estuvo expuesta a 50 ninfas de salivazo.

VARIABLES EVALUADAS.

Vigor del crecimiento

Para evaluar el vigor de crecimiento, se consideró las variables establecidas anteriormente como altura de la planta, diámetro del estolón, largo de la hoja y número de hojas. El vigor se basó en un descriptor con una Escala de Calificación de Vigor establecida por el sistema de evaluación estándar para arroz por el CIAT (Lamilla, 2017). Para ello se aplicó una estadística descriptiva, realizando una observación en diez plantas de cada tratamiento y aplicando la siguiente escala. Esta variable fue evaluada a los 115 días en presencia del insecto plaga Salivazo.

Cuadro 4. Escala para determinar vigor.

Categoría	Escala
Planta muy vigorosas	1
Planta Vigorosas	3
Plantas Intermedias o normales	5
Plantas menos vigorosas que lo normal	7
Plantas muy débiles y pequeñas	9

Numero de Salivazo por tratamiento.

Se registró contando el número de salivazos en diez plantas al azar presente en cada tratamiento a los 60 días. Para ello utilizó un recipiente y una pinza. Finalmente se realizó una sumatoria para determinar el número total de salivazo en toda el área de estudio.

Severidad de la plaga (Salivazo).

Se determinó el daño en el pasto Janeiro a los 60 días, observando el daño causado en las plantas y la presencia de individuos vivo. El siguiente descriptor nos permitió definir el grado de deterioro generado por los insectos en diez plantas tomadas anteriormente para establecer número de ninfas, las misma que luego fueron promediadas para definir la severidad.

De acuerdo a lo mencionado por Cuaspud Velasco (2015) se utiliza esta tabla para determinar la severidad de la plaga en cultivos.

Intensidad del daño	Individuos Vivos
Sin daño	0
Leve	1
Moderado	2
Alto	4
Fuerte	6
Muy Fuerte	>8

Cuadro 5. Escala para determinar severidad.

Análisis estadístico

Se aplicaron descriptores para determinar el vigor y la severidad ocasionada por el insecto salivazo en el pasto Janeiro, cuyos descriptores están conformados por categorías y escalas de evaluación.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1: Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagenico Etil – metasulfonato.

a. DL₅₀ en pasto Janeiro impregnado a 24 horas.

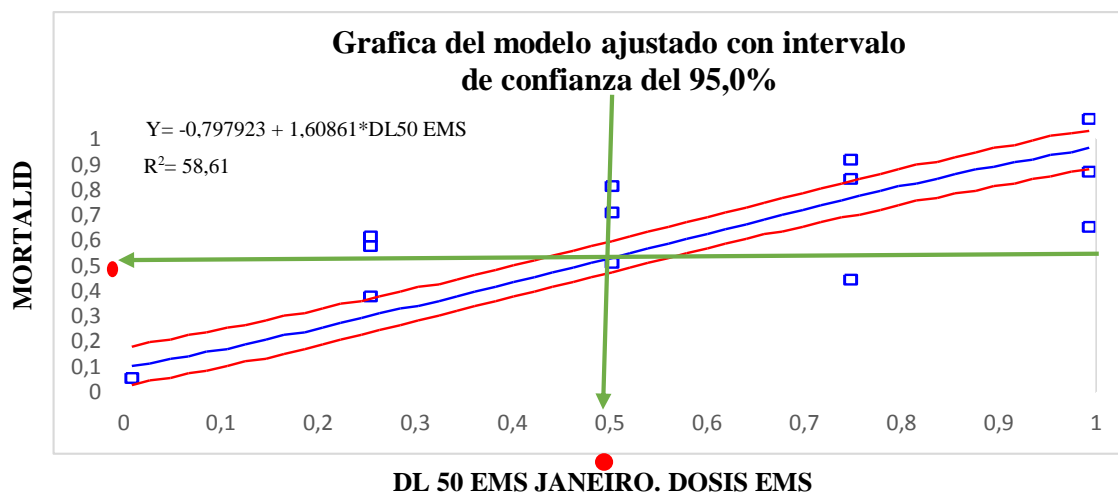


Figura 2. DL 50 en pasto janeiro a 24 horas de impregnación.

En la Figura 2. se puede observar la regresión lineal obtenida a partir del porcentaje de mortalidad frente a las dosis del EMS. La DL₅₀ alcanzada mediante el análisis de Probit fue de 0,49 % del EMS, en el cual hubo un 50% de mortalidad del pasto janeiro siendo la dosis más propicia a las 24 horas de impregnación con el agente mutagénico.

La fórmula que se aplicó fue $y = -0,797923 + 1,60861 * DL50 \text{ EMS Janeiro}$ con un R² de 58,61 porcentaje de desviación explicado por el modelo.

En la presente investigación se determinó que la menor mortalidad, se obtuvo en el tratamiento T3 a 24 horas de impregnación. Mediante la cual se estableció que la mortalidad aumenta con el incremento de las dosis del EMS. Cuyos resultados se asemejan a la investigación desarrollada por López E. (2011) que indujo variabilidad genética mediante EMS en cultivo in vitro de *Cenchrus ciliaris L.* quien expresa que se reduce el porcentaje de germinación a medida que aumenta la dosis y el tiempo, los mismo que adquirieron una DL₅₀ de 0,5 % la dosis se ajustó al porcentaje de germinación y desarrollo óptimo de las plantas. Till *et al.*, (2007) citado por Ebeling *et al.*, (2019) indican que las dosis de 0,5% a 1,0% durante 6 h pueden inducir mutaciones en el arroz. Gómez Villalva *et al.*, (2020) expresan que la menor mortalidad en pasto janeiro mediante mutagénesis física, se dio en tratamientos con bajas dosis de radiación. Con lo cual se infirió que la mortalidad aumenta al incrementar las dosis de irradiación.

b. DL50 en pasto Janeiro impregnado a 48 horas.

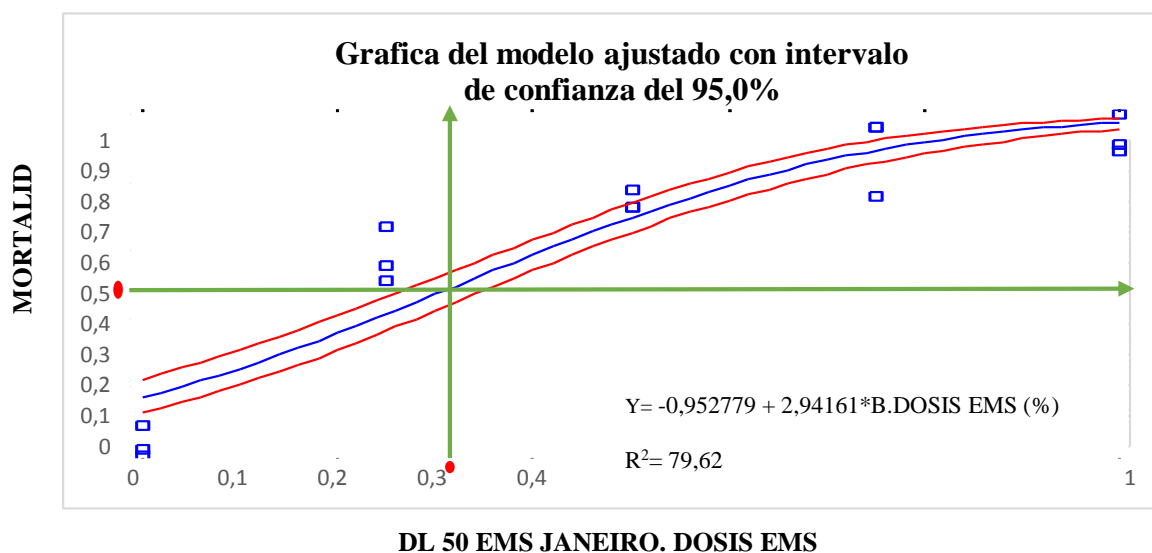


Figura 3. DL50 en pasto janeiro a 48 horas de impregnación

En la Figura 3. se muestra la regresión lineal ajustado a un modelo de regresión Probit para describir la relación entre porcentaje de mortalidad y dosis del agente mutagénico EMS. La ecuación del modelo ajustado es $Y = -0,952779 + 2,94161 * B. Dosis EMS (\%)$ con un $R^2 = 79,62$. El resultado obtenido indica que el DL_{50} fue de 0,32 % del EMS en la cual se obtuvo el 50% de mortalidad del pasto janeiro, con un tiempo de impregnación a 48 horas.

De acuerdo a los resultados la dosis de EMS que se debe impregnar en estolones de pasto janeiro obtenidos directamente del campo para generar variabilidad, se ubica entre 0,32% a 48 horas. Cuyos datos se asemeja con el estudio realizado por Costa Ortiz (2017) el cual impregno EMS en material vegetativo in vitro de alcachofa (*Romanesco*) quien menciona que obtuvieron un DL_{50} de 0,37 % del EMS; y observaron que a partir de una concentración mayor los explantos se necrosan y mueren. Mientras que Khalil et al., (2018) indicaron el estudio realizado en dos variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) discrepan con los resultados obtenidos en pasto janeiro con EMS, los cuales determinaron que el tratamiento mutagénico DL_{50} de callos ROC22 fue 0.1% EMS durante 17 h, mientras que, para callos FN39, fue 0.1% EMS durante 14 h. Por otra parte, Gómez Villalva et al., (2020) señalan que mediante mutagénesis física, las dosis de radiación que debe aplicarse a estolones de pasto janeiro propagados directamente en el campo para inducir variabilidad, se ubican entre 42 y 50 Gy.

c. Comparación de DL₅₀ en pasto Janeiro impregnado a las 24 y 48 horas.

A partir de la comparación del Porcentaje acumulado con la DL₅₀ del EMS en pasto Janeiro, se puede indicar que el valor-p de la tabla de Análisis de Desviaciones fue de 0,0000 siendo menor que 0,05, existiendo una relación estadística altamente significativa entre las variables impregnado a las 24 y 48 horas, con un intervalo de confianza del 95,0%.

A su vez el modelo estimado de regresión muestra que el R² a 48 horas fue de 79,62 siendo superior al R² a 24 horas de 58,61. Por lo tanto se indica que R² con la impregnación a 48 horas explica mejor el modelo utilizado.

Para determinar DL₅₀ en pasto Janeiro impregnado con EMS a diferentes dosis, se aplicó el modelo estadístico de regresión lineal la cual permitió mediante un análisis probit estimar la dosis media letal a 24 y 48 horas. Por lo tanto, el modelo utilizado concuerda con la investigación realizada por Guariniello (2016) en técnicas no convencionales para la obtención de variabilidad genética en *Panicum maximum Jacq*; para introducir una aproximación a la dosis óptima de trabajo, a partir de los datos de mortalidad se ajustó una curva de regresión lineal que permitió estimar la DL₅₀. Así, se determinó que con una concentración de 5,6% se obtiene un 50% de germinación con respecto al control (R²=0,68). De la misma manera Gómez Villalva (2020) en su investigación se determinaron el DL₅₀ con un promedio de 52,60 Gy. Para llegar a este resultado, se realizó el análisis probit en la variable establecimiento, que fue la que mejor se ajustó (mayor R²).

Objetivo 2: Evaluar el comportamiento agronómico de las plantas sometidas al agente mutagenico EMS bajo condiciones de invernadero.

d. Altura de planta del pasto Janeiro.

En el cuadro 6. se presenta los promedios de altura de planta del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,25 % de EMS a 24 horas de impregnación mostro alta significancia entre tratamientos, siendo estadísticamente superior con una altura de 0,60m

y (p valor = <0,0001). Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas y las dosis 0,25 % de EMS a 48 mostraron alta significancia, siendo estadísticamente iguales y superiores a los demás tratamientos, alcanzando una altura de 0,72 m y un (p valor = <0,0001). Transcurrido los 80 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas, alcanzo una altura de 1, 11 m expresando alta significancia y siendo estadísticamente igual a la dosis 0,25 % de EMS y la dosis 0,50 % EMS a 48 horas y (p valor = <0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo una altura de 1,54 m y (p valor = <0,0001).

Cuadro 6. Altura de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Altura de la planta 50 días (m)	Altura de la planta 65 días (m)	Altura de la planta 80 días (m)	Altura de la planta 95 días (m)
T1	0,00 %	24 horas	0,49 b c	0,67 a b	0,93 b c d	1,05 c d
T2	0,25 %	24 horas	0,51 b c	0,68 a b	1,03 a b	1,18 b c
T3	0,50 %	24 horas	0,60 a	0,72 a	1,11 a	1,33 b
T4	0,75 %	24 horas	0,50 b c	0,66 a b	0,96 b c	1,21 b c
T5	1,00 %	24 horas	0,49 b c	0,57 b c	0,73 e	0,91 d
T6	0,00 %	48 horas	0,49 b c	0,66 a b	0,96 b c	1,06 c d
T7	0,25 %	48 horas	0,51 b	0,72 a	1,04 a	1,54 a
T8	0,50 %	48 horas	0,48 b c	0,67 a b	1,07 a	1,23 b c
T9	0,75 %	48 horas	0,44 c	0,52 c d	0,86 c d e	1,06 c d
T10	1,00 %	48 horas	0,25 d	0,43 d	0,80 d e	0,94 d
Promedio general			0,48	0,63	0,95	1,15
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación(%)			11,02	12,61	9,72	11,14

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

ns = no significativo; **: Altamente significativo

En cuanto a la altura de la planta, se definió que varía en función a las dosis de EMS existiendo diferencias significativas entre tratamientos, a mayor dosis menor crecimiento del pasto Janeiro. Estos resultados concuerdan con lo expresado por Rojas et al., (2016) sobre la concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. ‘DOR 364’ cuyas dosis de EMS influyeron sobre las variables relacionadas con el crecimiento y desarrollo de plantas de frijol, mientras que con dosis superiores de 50 y 60 mM (milimol) se manifestó un crecimiento significativamente inferior. De la misma manera Irfan Siddique et al., (2020) indican que en un estudio de desarrollo y

caracterización de una población mutante con EMS en ají (*Capsicum annuum L.*) las plántulas M₁ incluyeron mutantes con fenotipos aberrantes para la altura de la planta y el color del follaje. En cuanto a la altura de la planta, 45 y 18 plantas se puntuaron como mutantes altas. En especies de *Petunia x hybrida Vilm Berenschot et al.*, (2008) mencionan que el tratamiento EMS provocó una mayor disminución en la altura de la planta a los 30 días y que las dosis más altas de mutágeno empleadas disminuyeron las tasas de supervivencia y altura. Por otra parte, en cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum L*) Kumar & Pandey (2020) mencionan que la altura de la planta se redujo junto con el aumento de la concentración de EMS, como en los tratamientos con EMS durante 3 y 5 h de duración provocaron una reducción significativa en la altura de la planta. Sin embargo, los tratamientos de menor concentración de EMS (0,1% y 0,3%) tuvieron un efecto estimulante sobre la altura de la planta sobre el control.

e. Diámetro del Tallo en pasto Janeiro

Los promedios de diámetro del tallo del pasto Janeiro se presentan en el cuadro 7. a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,50 % de EMS a 24 horas de impregnación mostro alta significancia con un (p valor <0,0001) y un diámetro de 3,10 mm; a 0,25 % de EMS a 48 horas mostraron alta significancia, siendo estadísticamente igual con un diámetro de 3,00 mm. Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas mostro alta significancia con un diámetro de 3,90 mm y la dosis 0,25 % de EMS a 48 mostraron alta significancia, siendo estadísticamente iguales alcanzando un diámetro de 4,00 mm con (p valor <0,0001). Transcurrido los 80 días los tratamientos T2, T3, T4, T6, T7 y T8, obtuvieron alta significancia, pero fueron estadísticamente iguales entre las dosis de EMS y tiempo de impregnación, con un (p valor <0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo un diámetro de tallo de 4,70 mm y un (p valor <0,0001).

Cuadro 7. Diámetro del tallo de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Diámetro del tallo 50 días (mm)	Diámetro del tallo 65 días (mm)	Diámetro del tallo 80 días (mm)	Diámetro del tallo 95 días (mm)
T1	0,00 %	24 horas	2,10 b	2,80 b c d	3,40 a b	3,80 c d
T2	0,25 %	24 horas	2,50 a b	3,20 b	3,70 a	4,00 a b c d
T3	0,50 %	24 horas	3,10 a	3,90 a	4,00 a	4,40 a b c
T4	0,75 %	24 horas	2,50 a b	3,10 b c	3,50 a	3,90 b c d
T5	1,00 %	24 horas	1,90 b	2,40 d	2,70 c	4,00 d e
T6	0,00 %	48 horas	1,90 b	3,10 b c	3,50 a	2,80 a b c d
T7	0,25 %	48 horas	3,00 a	4,00 a	4,00 a	4,70 a
T8	0,50 %	48 horas	2,40 a b	3,20 b	3,90 a	4,60 a b
T9	0,75 %	48 horas	1,90 b	2,50 c d	2,80 b c	3,60 d
T10	1,00 %	48 horas	2,00 b	2,30 d	2,70 c	3,80 c d
Promedio general			2,33	3,05	3,42	3,96
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación(%)			20,84	13,94	13,95	13,50

El diámetro del tallo evaluado en diferentes fechas (50 a 95 días), presentó diferencias significativas (p valor $<0,0001$) lo que muestra que la misma aumenta a medida que pasa el tiempo, siendo influenciada por las diferentes dosis del EMS. El-Torky (1992) y Gvozdencovic et al (2009) citado por Mostafa (2015) señalan que en plántulas de Caoba (*Khaya senegalensis*) impregnada con el dimetilsulfato (DMS) los tratamientos disminuyeron en la variable diámetro del tallo de 1,70 cm a 0,70 cm al incrementar las dosis; de igual manera el peso fresco y seco del crecimiento vegetativo en ambas estaciones (año) en comparación con el control. Lo cual estos resultados se asemejan con los registrados a los 95 días obteniendo valores de 4,70 mm a 2,80 mm a medida que se utiliza mayor concentración de mûgatenos químicos. Mientras tanto Gómez Villalva et al., (2020) en estudios sobre Intervalos de corte de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya Kunth*) M2 irradiado con rayos gamma, mencionan que el mayor diámetro de tallo numéricamente lo presentó el tratamiento 0 Gy, 25 Gy, 50 Gy, 75 Gy con un valor de 0,37 centímetros a los 40 días después del corte, a dosis de 100 Gy se reduce a 0, 27 cm.

f. Número de hojas en pasto Janeiro.

En el cuadro 8. se presentan los promedios de números de hojas del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,25 % de EMS a 48 horas de impregnación mostro alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás con 7 hojas emitidas y un (p-valor 0,0011). Luego a los 65 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presentó alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, alcanzando un número de 7,90 hojas emitidas y con un (p valor <0,0001). Transcurrido los 80 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas, obtuvo 9 hojas expresando alta significancia y siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos con un (p valor <0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presentó alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo 11,60 hojas emitidas con un (p valor <0,0001).

Cuadro 8. Número de hojas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	N° de hojas 50 días	N° de hojas 65 días	N° de hojas 80 días	N° de hojas 95 días
T1	0,00 %	24 horas	5,50 b	7,10 a b c	7,60 c d	8,40 b c
T2	0,25 %	24 horas	5,60 b	6,70 b c	7,90 a b c d	10,20 a b
T3	0,50 %	24 horas	6,10 a b	7,70 a b	9,00 a	9,90 a b
T4	0,75 %	24 horas	5,40 b	6,40 c	7,70 b c d	9,80 a b c
T5	1,00 %	24 horas	5,60 b	6,30 c	6,80 d	7,60 c
T6	0,00 %	48 horas	6,20 a b	7,10 a b c	8,10 a b c	8,80 b c
T7	0,25 %	48 horas	7,00 a	7,90 a	8,80 a b	11,60 a
T8	0,50 %	48 horas	6,10 a b	6,90 a b c	7,80 b c d	9,70 a b c
T9	0,75 %	48 horas	5,80 a b	6,80 a b c	7,60 c d	8,70 b c
T10	1,00 %	48 horas	5,30 b	6,30 c	7,30 c d	8,70 b c
Promedio general			5,86	6,92	7,86	9,34
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación(%)			14,71	11,47	10,35	16,83

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

*ns = no significativo; **: Altamente significativo*

La emisión foliar se va afectada por las dosis y horas de impregnación del EMS aplicado en el pasto janeiro, disminuyendo la cantidad de hojas. Lo cual se compara con el estudio

realizado por Akhtar (2014) quien evaluó el efecto de mutágenos físicos y químicos sobre comportamiento morfológicos del tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. bajo condiciones de estrés por calor; el cual menciona que con dosis de EMS en el caso de número de hojas se observó una diferencia significativa entre todos los tratamientos con control, donde el mayor número de hojas se contabilizó en dosis de 8 Mm (milimol) EMS (70 hojas) y 16 mM (61 hojas). A medida que el nivel de dosis de EMS aumentó, los parámetros de crecimiento disminuyeron número de hojas calculado 29 y 20 en 24 mM y 32 mM respectivamente.

g. Largo de la Hoja en Pasto Janeiro

Se presentan los promedios del largo de la hoja del pasto Janeiro en el cuadro 9. a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días los tratamientos T3 alcanzo una longitud de 19,27 cm y T7 obtuvo una longitud de 17, 43 cm mostraron significancia entre tratamientos y un comportamiento estadístico igual con un (p-valor= 0,0012). Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas presentó una longitud de 27,31 cm siendo estadísticamente igual a la dosis 0,25 % de EMS a 48 alcanzo con una longitud de 27,36 cm de largo y un (p-valor= 0,0013). Transcurrido los 80 días los tratamientos T7 obtuvieron un largo de hoja de 32,46 cm y T8 una longitud de 33,03 cm siendo estadísticamente iguales y (p-valor= 0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, y fue estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo una longitud de 38,87 cm y (p-valor= 0,0001).

Cuadro 9. Largo de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Largo de hojas 50 días (cm)	Largo de hojas 65 días (cm)	Largo de hojas 80 días (cm)	Largo de hojas 95 días (cm)
T1	0,00 %	24 horas	14,53 b	24,01 a b	29,71 a b	34,51 b c
T2	0,25 %	24 horas	14,41 b	24,06 a b	31,38 a	34,82 a b c
T3	0,50 %	24 horas	19,27 a	27,31 a	32,40 a	36,93 a b
T4	0,75 %	24 horas	14,35 b	23,31 a b	29,36 a b	34,81 a b c
T5	1,00 %	24 horas	14,58 b	22,33 b	25,78 b	32,32 c
T6	0,00 %	48 horas	15,80 a	23,75 a b	30,29 a	33,27 b c

T7	0,25 %	48 horas	17,43 a	27,36 a	32,46 a	38,87 a
T8	0,50 %	48 horas	14,61 b	24,30 a b	33,03 a	36,65 a b
T9	0,75 %	48 horas	15,62 a	21,26 b	29,16 a b	34,72 a b c
T10	1,00 %	48 horas	14,44 b	22,84 a	29,02 a b	32,19 c
Promedio general			15,50	24,05	30,26	34,91
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación(%)			18,02	13,94	9,43	8,45

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

*ns = no significativo; **: Altamente significativa*

En cuanto al largo de la hoja en pasto janeiro con EMS, se puede observar que hubo alta significancia (p -valor = 0000,1) obtenido un mejor desarrollo longitudinal el T7. Mientras que la probabilidad de encontrar hojas más desarrolladas a mayor dosis disminuye. Un estudio realizado por Suthakar & Mullainathan (2015) en *Sorghum bicolor L.* mencionan que, en el caso de longitud de hoja, obtuvieron un máximo desarrollo con dosis de EMS a 40 mM de cuyas mediciones fueron 67.80 cm y 08.42 cm en comparación con el control y otra concentración de EMS y tratamiento con rayos gamma

h. Ancho de la Hoja del Pasto Janeiro

En el cuadro 10. se presentan los promedios de ancho de la hoja del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó baja y alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días las diferentes dosis de EMS bajo variadas horas de impregnación mostró baja significancia entre tratamientos con un (p -valor= 0,0262), siendo todos estadísticamente iguales. Matemáticamente el tratamiento T3 supera alcanzando la hoja una anchura de 0,87 cm. Luego a los 65 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas expreso alta significancia y un (p -valor= 0,0001) siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, alcanzando una anchura de 1,34 cm. Transcurrido los 80 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas, alcanzo una anchura de 1,63 cm presentando alta significancia con un (p -valor= 0,0001) y siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos estudiados. Finalmente, a los 95 la dosis de 0,25 % de EMS a 48 horas, alcanzó una anchura de 1,99 cm con un (p -valor= <0,0001).

Cuadro 10. Anchura de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Ancho de hojas 50 días (cm)	Ancho de hojas 65 días (cm)	Ancho de hojas 80 días (cm)	Ancho de hojas 95 días (cm)
T1	0,00 %	24 horas	0,73 a	1,12 b c	1,39 b c d	1,87 a b
T2	0,25 %	24 horas	0,74 a	1,13 b c	1,47 a b c	1,84 a b
T3	0,50 %	24 horas	0,87 a	1,31 a b	1,54 a b	1,93 a
T4	0,75 %	24 horas	0,75 a	1,24 a b	1,55 a b	1,80 a b
T5	1,00 %	24 horas	0,75 a	1,00 c	1,29 e	1,47 c
T6	0,00 %	48 horas	0,61 a	1,17 a b c	1,17 c d e	1,88 a b
T7	0,25 %	48 horas	0,85 a	1,34 a	1,63 a	1,99 a
T8	0,50 %	48 horas	0,65 a	1,15 a b c	1,38 b c d	1,71 a b c
T9	0,75 %	48 horas	0,66 a	1,00 c	1,23 d e	1,49 c
T10	1,00 %	48 horas	0,66 a	1,19 a b c	1,33 c d e	1,59 b c
Promedio general			0,73	1,17	1,40	1,76
Significancia estadística			*	**	**	**
Coeficiente de variación(%)			24,69	11,24	9,90	11,52

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

*ns = no significativo; **: Altamente significativa*

Los resultados obtenidos demuestran que la variable ancho de la hoja en pasto janeiro varia conforme a las dosis del agente mutagénico EMS utilizadas. En un estudio realizado por Alcívar Torres, et al., (2020) sobre el comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte, señalan que los tratamientos 7 (52 Gy, 250 kg de fertilizante y 35 días de corte) y 8 (52 Gy, 250 kg de fertilizante y 45 días de corte), con un promedio de 2,02 y 2,07 cm., respectivamente, fueron superiores y diferentes únicamente a los tratamientos 1 (0 Gy, 0 kg., 35 días de corte) y 2 (0 Gy, 0 kg., 45 días de corte), con un valor de 1,34 y 1,39 cm., respectivamente

Objetivo 3: Seleccionar plantas mutantes del pasto Janeiro con características de resistencia al ataque del Salivazo.

i. Vigor del crecimiento.

En el cuadro 11 se muestra los valores de las características evaluadas, que evidencian los procesos de crecimiento y desarrollo del pasto janeiro a los 95 días cuyos datos fueron necesarios para realizar la comparación entre un análisis descriptivo y lograr determinar el vigor del crecimiento.

Se puede evidenciar que la dosis a 0,50 % de EMS a 24 horas y 0,25 % de EMS a 48 horas de impregnación sobresalieron estadísticamente en todas las variables; como altura, diámetro del tallo, número de hojas, largo y ancho de la hoja, presentando mejor desarrollo fisiológico, mientras que a mayor dosis de EMS las plantas mostraron retraso en su crecimiento.

Cuadro 11. Desarrollo fisiológico a los 95 días en *Eriochloa polystachya* mediante etilmetasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Desarrollo Fisiológico a los 95 días del pasto janeiro					
Tratamientos	Altura (m)	Diámetro del tallo (mm)	N° de hojas	Largo de hoja (cm)	Ancho de la hoja (cm)
T1	1,05 c d	3,80 c d	8,40 b c	34,51 b c	1,87 a b
T2	1,18 b c	4,00 a b c d	10,20 a b	34,82 a b c	1,84 a b
T3	1,33 b	4,40 a b c	9,90 a b	36,93 a b	1,93 a
T4	1,21 b c	3,90 b c d	9,80 a b c	34,81 a b c	1,80 a b
T5	0,91 d	4,00 d e	7,60 c	32,32 c	1,47 c
T6	1,06 c d	2,80 a b c d	8,80 b c	33,27 b c	1,88 a b
T7	1,54 a	4,70 a	11,60 a	38,87 a	1,99 a
T8	1,23 b c	4,60 a b	9,70 a b c	36,65 a b	1,71 a b c
T9	1,06 c d	3,60 d	8,70 b c	34,72 a b c	1,49 c
T10	0,94 d	3,80 c d	8,70 b c	32,19 c	1,59 b c

Por lo tanto, mediante una escala de Vigor de crecimiento establecida por el sistema de evaluación estándar para arroz por el CIAT (Lamilla, 2017) se contrasto con los datos presentados anteriormente.

Categoría	Escala
Plantas muy vigorosas	1
Plantas vigorosas	3
Plantas intermedias o normales	5
Plantas menos vigorosas que lo normal	7
Plantas muy débiles y pequeñas	9

En el cuadro 12. Se muestran los promedios de la variable vigor de crecimiento, obtenidos a partir de una categoría descriptiva, donde se aprecia que los tratamientos T3 y T7 con dosis de 0,50 % de EMS a 24 horas y 0,25 % de EMS a 48 horas respectivamente, alcanzaron valores de 1,80 (Cuadro 12 y gráfico 1) considerándose como plantas muy vigorosas ya que se ajustan con el valor 1 de la escala CIAT utilizada para evaluar vigor vegetativo, La evaluación descriptiva se basó en altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, ancho de la hojas y largo de la hoja, realizado a los 95 días.

Cuadro 12. Vigor de crecimiento a los 115 días y en presencia del Salivazo, en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Vigor de crecimiento	Categoría
T1	0,00 %	24 horas	3,70	Plantas vigorosa.
T2	0,25 %	24 horas	3,40	Plantas vigorosas.
T3	0,50 %	24 horas	1,80	Plantas muy vigorosas.
T4	0,75 %	24 horas	5,00	Plantas intermedias o normales
T5	1,00 %	24 horas	7,80	Plantas menos vigorosas que lo normal.
T6	0,00 %	48 horas	3,20	Plantas vigorosas.
T7	0,25 %	48 horas	1,80	Plantas muy vigorosas.
T8	0,50 %	48 horas	5,20	Plantas intermedias o normales
T9	0,75 %	48 horas	8,00	Plantas menos vigorosas que lo normal y plantas muy débiles y pequeñas.
T10	1,00 %	48 horas	8,40	Plantas menos vigorosas que lo normal y plantas muy débiles y pequeñas.

Las dosis aplicadas en el pasto janeiro indicaron que a mayor concentración de EMS y a mayor tiempo de impregnación disminuye el crecimiento de la planta lo cual se observó en el tratamiento T9 y T10 de EMS a 48 horas de impregnación llegando a tener bajo desarrollo fisiológico, estos resultados concuerda con lo descrita por Castillo, et al., (2015) donde manifiestan que en Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) usando etil metano sulfonato se probaron tiempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 min, con dosis de 0,2 % v/v EMS y se observó con respecto al crecimiento una disminución en este parámetro comparado con el testigo. Los mutantes de lento desarrollo y enano presentaron una disminución en el crecimiento del 47.5% y 81.5% respectivamente.

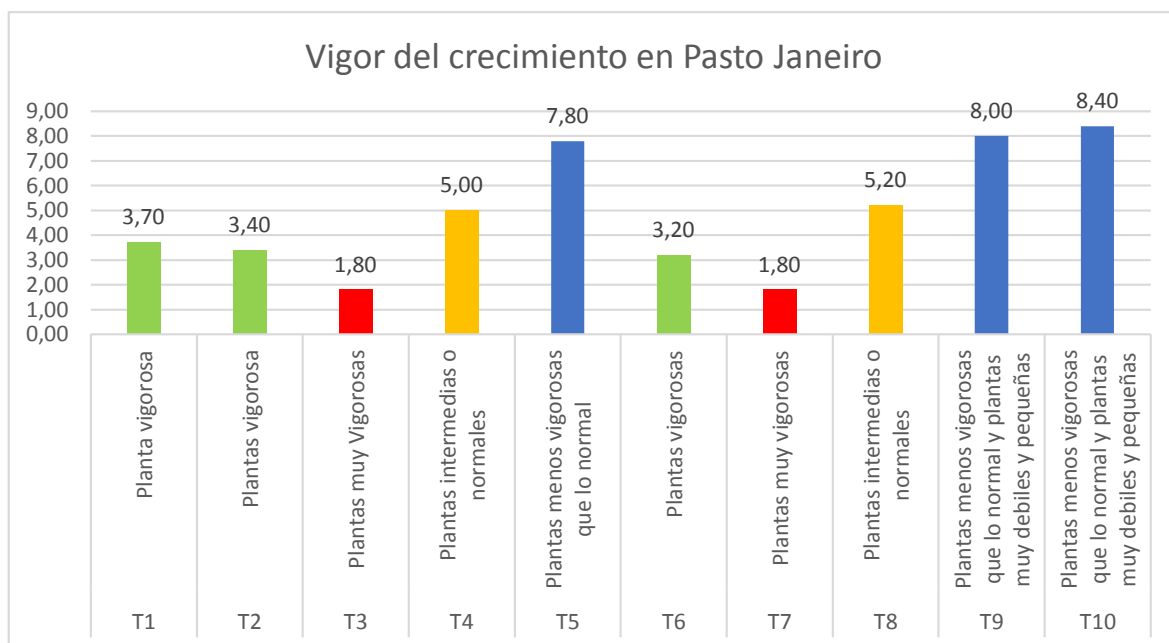


Gráfico 1. Fuente: Vigor del crecimiento con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

j. Número de Salivazo por tratamiento a los 60 días de inoculación.

En el cuadro 13. se muestran los valores de las poblaciones inicial y final en número de salivazos presente a los 60 días de inoculación en cada tratamiento. Para lo cual se procedió a extraer las ninfas de cada planta por estudio, misma que nos permitió definir que los tratamientos T1 y T6 0,00 % de EMS a 24 horas y 0,00 % de EMS a 48 horas respectivamente, presentaron mayor población de Salivazo. Seguido de los tratamientos T2 y T3 que mostraron entre 15 y 17 ninfas. Finalmente, los tratamientos con mayor dosis de EMS 1,00 % a 24 y 48 horas manifestaron menor número de salivazos 2,00 ninfas.

Cuadro 13. Número de Salivazo a los 60 días después de la inoculación, en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

Los resultados obtenidos a los 60 días, demuestran que hubo un incremento de la población de 102,00 ninfas a las que estuvo expuesta todo el estudio. Por lo tanto, durante

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Población Inicial	Población Final
T1	0,00 %	24 horas	5 ninfas	19,00 ninfas
T2	0,25 %	24 horas	5 ninfas	15,00 ninfas
T3	0,50 %	24 horas	5 ninfas	13,00 ninfas
T4	0,75 %	24 horas	5 ninfas	4,00 ninfas
T5	1,00 %	24 horas	5 ninfas	2,00 ninfas

T6	0,00 %	48 horas	5 ninfas	20,00 ninfas
T7	0,25 %	48 horas	5 ninfas	17,00 ninfas
T8	0,50 %	48 horas	5 ninfas	7,00 ninfas
T9	0,75 %	48 horas	5 ninfas	3,00 ninfas
T10	1,00 %	48 horas	5 ninfas	2,00 ninfas
Total			50,00 ninfas	102,00 ninfas

este periodo las ninfas del Salivazo, pasaron por los diferentes estadios. Contrastando con lo citado por (Ortiz, 2018) menciona que durante su ciclo de vida este insecto pasa por tres estados de desarrollo, huevo, ninfa, adulto. La hembra pone los huevos sobre el suelo y sobre las hojas de la caña que han caído al suelo. Entre 20 y 40 días después salen las ninfas, se recubren de una baba o líquido viscoso que las protege de la desecación. Las ninfas duran alrededor de 60 días, tiempo durante el cual cambian de piel cuatro veces antes de la última muda en la que llegan al estado adulto.

k. Severidad de la plaga (Salivazo) por planta.

Se evaluó la severidad en plantas de pasto Janeiro a los 60 días después de haber sido inoculado el insecto Salivazo en cada tratamiento. Para lo cual se utilizaron una escala de calificación que nos permitió definir el grado de deterioro generado por los insectos. De acuerdo a lo mencionado por (Cuaspud Velasco, 2015) para determinar la severidad de la plaga en cultivos se utilizó los descriptores.

Intensidad del daño al cultivo	Individuos Vivos
Sin daño	0
Leve	1
Moderado	2
Alto	4
Fuerte	6
Muy Fuerte	>8

En el cuadro 14. se visualiza la severidad promedio por planta de cada tratamiento en estudio, para lo cual se utilizó el número de salivazo por planta evaluado anteriormente. Utilizando la escala de severidad podemos observar que los tratamientos T4 y T5, con dosis 0,75 y 1,00% de EMS impregnado a 24 horas y los tratamientos T9 y T10 con dosis de 0,75 y 1,00% de EMS impregnado a 48 horas presentaron valores de 0 individuos vivos, considerándose a aquellos tratamientos sin daños en las plantas en base a la escala

de severidad utilizada; mientras que los tratamientos T3 y T8 con dosis 0,50% de EMS a 24 y 48 horas, presentaron valores de 1 individuo vivo y los tratamientos T1, T2 con dosis de 0,00% y 0,25% de EMS a 24 horas y los tratamientos T6 y T7 con dosis 0,00 % y 0,25 % de EMS a 48 horas presentaron valores de 2 individuos vivos, causando daños leves y moderados respectivamente, como secamiento del follaje, deterioro de su calidad en los tratamientos control.

Cuadro 14. Severidad de la plaga (salivazo) por plantas a los 60 días después de la inoculación, en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Presencia de ninfas por planta/promedio	Intensidad del daño al cultivo
T1	0,00 %	24	2	Moderado
T2	0,25 %	24	2	Moderado
T3	0,50 %	24	1	Leve
T4	0,75 %	24	0	Sin daño
T5	1,00 %	24	0	Sin daño
T6	0,00 %	48	2	Moderado
T7	0,25 %	48	2	Moderado
T8	0,50 %	48	1	Leve
T9	0,75 %	48	0	Sin daño
T10	1,00 %	48	0	Sin daño

Los daños presenciados concuerdan con la descripción realizado por (Sotelo & Cardona, s.f.) entomólogos del (CIAT) los cuales indican que el ataque intenso de los *Cercópidos* causan secamiento total del follaje, ataques leves generan un retardo del crecimiento, reduce la producción de forraje, los daños de esta plaga se han registrados en regiones húmedas sembradas con gramíneas susceptibles.

V. CONCLUSIONES

1. Las dosis de etil-metanosulfonato (EMS) tuvieron efecto directo en el prendimiento de los estolones del pasto janeiro, presentándose un alto índice de deflación en dosis superiores a 0.50 %. Por lo tanto, el mejor tiempo de impregnación fue a 48 horas.
2. Los tratamientos con dosis de 0,25 % de EMS a 48 horas, lograron mantener el mejor comportamiento agronómico hasta los 95 días, donde la altura de planta, tuvo su mejor desarrollo con el uso cercano a la determinada como DL₅₀ (0,32 %).
3. El pasto janeiro impregnado con EMS en condiciones de invernadero presentó daños leves causado por el Salivazo, con lo cual no se puede manifestar que hubo tolerancia en este trabajo de investigación.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda:

1. Replicar este trabajo de investigación con una mayor cantidad de estolones del pasto janeiro, haciendo uso de la DL_{50} obtenida.
2. Para investigaciones posteriores de este tipo, utilizar el DL_{50} (0,32 % de EMS a 48 horas) establecido en este estudio.
3. Desarrollar esta investigación en condiciones de campo, en las zonas donde el insecto Salivazo es endémico (Bucay) la cual cuenta con condiciones climáticas favorables para el insecto plaga.
4. Realizar investigaciones sobre la producción y rendimiento de los pastos en las zonas de Santo Domingo, siendo condiciones favorables para las afectaciones por Salivazo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akhtar, N. (2014). Efecto de mutágenos físicos y químicos sobre comportamiento morfológicos del tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. "Rio Grande" bajo condiciones de estrés por calor. *Plant breeding and seed science*, 70. doi:DOI: 10.1515/plass-2015-0014
- Alcivar Torres, L., Mosquera Peralta, M., Gómez Villalva, J., & Aguirre Terrazas, L. (2020). Comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte. *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*, 5. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.4432392>
- Álvarez, A., Morales, C. R., Avendaño, C. H., & Corrales, R. (2019). Dosis letal media (DL 50) y reducción de crecimiento (GR 50) por irradiación gamma en pasto garrapata (*Eragrostis superba*). *Scielo*, 10(1). doi:<https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4327>
- Belmonte, Á. (15 de Abril de 2020). *Qué son las mutaciones inducidas*. Recuperado el 19 de Febrero de 2021, de Un profesor: <https://www.unprofesor.com/ciencias-naturales/que-son-las-mutaciones-inducidas-4112.html>
- Benítez, E., Chamba, H., Sánchez, E., A. Parra, S., & Ochoa, D. (2017). Caracterización de pastos naturalizados de la Región. *Boques Latitud cero*(2), 83-97. Recuperado el 22 de Noviembre de 2020, de <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/download/323/296/1101>
- Benjavad, A., Shahrokhifar, B., & Benjavad, A. (2012). Mutagénesis inducida por sulfonato de etil metano (EMS) en arroz de Malasia (cv. MR219) para la determinación de dosis letales. *Academico de Microsoft*, 3(12). doi:10.4236 / ajps.2012.312202
- Berenschot, A., Zucchi, M., & Tulmann, A. (2008). Mutagénesis en *Petunia x hybrida* Vilm. y aislamiento de un nuevo mutante morfológico. *Scielo*, 2(2). doi:<https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000200002>
- Bologna, P. (1 de Diciembre de 2011). *INTA*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de ¿Qué es la mutagénesis inducida?: <https://inta.gob.ar/documentos/bfque-es-la-mutagenesis-inducida>
- Briones, L. (2016). *Evaluación de las edades de corte en pasto janeiro (Eriochloa polystachya) para el proceso de ensilado en la zona de Vinces*. Recuperado el 20 de Enero de 2021, de Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/20808/1/Andres%20Briones%20Corregido%2020%20de%20julio%20321.docx>
- Bustillo, A., & Castro, U. (Noviembre de 2011). Hábitos, biología y manejo de la población. *El salivazo de la caña de azúcar*(11), pág. 16. Recuperado el 20 de Enero de 2021, de https://www.cenicana.org/pdf_privado/serie_divulgativa/sd_11/sd_11.pdf
- Cajilima Arcos, W. D. (2009). "Control biológico del salivazo (*Mahanarva andigena*) en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) con *Metarhizium* sp. Sector los ángeles

- parroquias puyo*". Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Universidad Estatal Amazonica:
<https://repositorio.uea.edu.ec/bitstream/123456789/68/1/T.AGROP.B.UEA.1005>
- Calle, G. (2013). *Prospección de insectos plaga y sus controladores biológicos en el cultivo de caña panelera (Saccharum officinarum). Pacto, pichincha*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1004/1/T-UCE-0004-6.pdf>
- Carreño, E. (2016). *Eficacia de aislamientos nativos de Metarhizium anisopliae (Metch.) Sorokin, en el control de ninfas de Mahanarva andigena (Jacobi), en la caña de azúcar (Saccharum officinarum L.) bajo condiciones de laboratorio*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de
<http://201.159.223.17/bitstream/123456789/307/1/T.GROP.B.EUA.1042.pdf>
- Castillo Martínez, De la Cruz Torrez, Carrillo Castañeda, & Avendaño Arrazate. (Abril de 2015). *Agro Productividad*. Recuperado el 28 de Mayo de 2020, de Inducción de mutaciones en Crisabteno (*Dendranthema grandiflora*) usando radiación gamma y Etil metanosulfonato: <http://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/650>
- Castillo, M., De la Cruz, T., & Carrillo, C. (2015). Inducción de mutaciones en crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) usando radiación Gamma y Etil Metano sulfonato. *revista-agroproductividad*, 61. Recuperado el 2019 de Noviembre de 2019, de <http://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/650/519>
- Castro, U., & Morales, A. (2005). Dinámica poblacional y fenología del salivazo de los pastos *Zulia carbonaria* (Lallemand) (Homoptera: Cercopidae) en el valle geográfico del río Cauca, Colombia. *Scielo*, 34(3). Recuperado el 30 de Agosto de 2020, de https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1519-566X2005000300015&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Cepeda, L. (2016). *Evaluación de cuatro densidades de siembra de los Pastos Tanner (Brachiaria arrecta) y Janeiro (Eriochloa polystachya) para la producción bovina en la zona baja inundable de Babahoyo*. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/3228/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000011.pdf;jsessionid=C141D8EAE3E12853E14D0CA48AA8E4C3?sequence=1>
- Chen , T., Huang , L., Wang, M., & Huang , Y. (2020). Mutagénesis inducida por etilmetilsulfonato y sus efectos sobre los rasgos agronómicos, de rendimiento y de calidad del maní. *agronomy*, 10(5). doi:<https://doi.org/10.3390/agronomy10050655>
- CINCAE. (2014). *Biología, dinámica poblacional y enemigos naturales del salivazo, Mahanarva trifissa (Jacobi) (Hemiptera, Cercopidae), de la caña de azúcar*. Recuperado el 26 de Octubre de 2020, de Centro de Investigación de la caña de azúcar: <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/04/A%C3%B1o-16.pdf>
- Cobos, F. B. (2018). *Fenología y producción de Rye grass (Lolium multiflorum) bajo sistema de labranza convencional y alternativa en la Granja de Irquis*. Recuperado el 21 de Febrero de 2021, de Universidad de Cuenca:

<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28826/3/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf.pdf>

- Contreras, C. (2019). *Comportamiento agronómico del pasto janeiro (Eriochloa polystachya), con la aplicación de nitrógeno en el cantón Babahoyo*. Recuperado el 06 de 24 de 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6678/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000208.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Costa Ortiz, A. (2017). *Inducción y evaluación de mutantes de alcachofa tolerantes a salinidad*. Recuperado el 29 de Junio de 2020, de <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/3445/1/Costa%20Ortiz%2C%20Aida%20TFGBiotec%202014-15.pdf>
- Cuaspud Velasco, W. (2015). *Evaluación de la eficacia de tres insecticidas para el control del gusano blanco (premnotrypes vorax) en papa variedad super chola en el sector de Santa Martha de Cuba, provincia del Carchi*. Recuperado el 30 de Junio de 2020, de Universidad Tecnica de Babahoyo: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/986/T-UTB-FACIAG-AGR-000185.pdf?sequence=1>
- De la Cruz, W., & Cajilima, W. (2015). *Control biológico del salivazo (Mahanarva andigena) en caña de azúcar (Saccharum officinarum) con Metarhizium sp. (Fungi: Ascomycota: Clavicipitaceae)*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Ecuador: <https://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/157/135>
- Ebeling Viana, V., Pegoraro, C., & Busanello, C. (2019). Mutagenesis in Rice: The Basis for Breeding a New Super Plant. *Front. Plant Sci.* doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01326>
- Elizondo Salazar, J. A. (Febrero de 2004). *Plgas de los pastos*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Revista Lista de Toros Jersey para Inseminación Artificial de la Asociación de Criadores: https://eeavm.ucr.ac.cr/Documentos/ARTICULOS_PUBLICADOS/2004/59.pdf
- Flórez, G. C. (2018). *Metodos de estudio Felogia de las plantas*. Recuperado el 21 de Febrero de 2021, de Asociacion primatologica Colombiana: <https://www.asoprimatologicacolombiana.org/notas-redprim/metodos-de-estudio-fenologia-de-plantas>
- Fonseca, P. (27 de Marzo de 2017). *Estas son las enfermedades de los pastos*. Recuperado el 30 de Noviembre de 2019, de Contexto ganadero: <https://www.contextoganadero.com/reportaje/estas-son-las-enfermedades-de-los-pastos-que-existen-en-colombia>
- Geraldino, C. (2018). *Universidad Nacional Agraria La Molina*. Recuperado el 15 de febrero de 2021, de Variacion fenotipica en una poblacion M3de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) variedad amarilla marangani desarrollada mediante aplicaciones de rayos gamma.: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3444/geraldino-valenzuela-coral-milagros.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Gomez Villalva, J., Aguirre, L., Gomez Pando, L., & Reyez Borja, W. (2020). Dosis letal media para inducir mutaciones, con rayos gamma, en pasto janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth). *Scielo*. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de Dosis letal media para inducir mutaciones, con rayos gamma, en pasto janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth): http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202020000100073&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Gómez Villalva, J., Salinas Lozada, C., Tierra Cedeño, F., & Rodríguez Alava, J. (2020). Intervalos de corte de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M2 irradiado con rayos gamma. *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*, 5. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.4424206>
- Guariniello, J. (2016). *Universidad Nacional de Luján*. Recuperado el 18 de Enero de 2021, de Aplicación de técnicas no convencionales para la obtención de variabilidad genética en *Panicum maximum* Jacq.: https://repositorio.inta.gob.ar/bitstream/handle/20.500.12123/6344/INTA_CICVyA_InstitutoGenetica_Guariniello_J_Aplicacion_de_tecnicas_no_convencionales.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hernandez, S., & Pedraza, M. (2019). La mutagénesis en el mejoramiento de plantas ornamentales. *Scielo*. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.12.022>
- Holmann, F., & Peck, D. (2018). El Daño Económico por Cercópodos en. *ResearchGate*. Recuperado el 16 de Enero de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/238774622_El_Dano_Economico_por_Cercopodos_en_Regiones_Ganaderas_de_Colombia/link/5bae83c4a6fdccd3cb7b9955/download
- INATEC. (2016). *Instituto nacional tecnologico direccion general de formacion profesional*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2019, de Manual del protagonista pastos y forrajes: https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Pastos_y_Forrajes.pdf
- INIAP. (1989). *Manual de pastos tropicales*. Recuperado el 20 de Enero de 2021, de Estacion Experimental Pichilingue - INIAP: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/1622/1/Manual%20n%c2%ba%2011%20de%20pastos%20tropicales%20reducido%20ultimo.pdf>
- Irfan Siddique, M., Espalda, S., Jang, S., & Han, K. (2020). Development and Characterization of an Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Induced Mutant Population in *Capsicum annuum* L. *Plants*, 9(3), 396. doi:<https://doi.org/10.3390/plants9030396>
- Jankowicz, J., & Till, B. (2016). Mutagénesis química de semillas y plantas propagadas vegetativamente utilizando EMS. *Académico de Microsoft*, 1(4), 617-635. doi:10.1002/CPPB.20040
- Khalil, F., Naiyan, X., Tayyab, M., & Pinghua, C. (2018). Screening of EMS-Induced Drought-Tolerant Sugarcane Mutants Employing Physiological, Molecular and Enzymatic Approaches. *Agronomy*, 8(10), 226. doi:<https://doi.org/10.3390/agronomy8100226>

- Kulmi, M., Mogali, S., & Patil, K. (2017). Aislamiento de mutantes de alto rendimiento mediante mutagénesis inducida por EMS en linaza (*Linum usitatissimum* L.). (P. excelentes, Ed.) *Revista Internacional de Microbiología Actual y Ciencias Aplicadas (IJCMAS)*, 278-285. Recuperado el 27 de Junio de 2020, de <https://www.ijcmas.com/abstractview.php?ID=3489&vol=6-8-2017&SNo=37>
- Kumar, & Pandey. (2020). Cambios inducidos por el metanosulfonato de etilo en los aspectos cito-morfológicos y bioquímicos de *Coriandrum sativum* L. *Revista de la Sociedad Saudita de Ciencias Agrícolas*, 19(8), 548-550. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.003>
- Lamilla, A. (2017). *Identificación de segregantes superiores en poblaciones heterocigóticas F2 de arroz japonico (Oryza sativa L. ssp. japonica)*. Recuperado el 08 de 09 de 2020, de Dspace: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/3373/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000008.pdf?sequence=1>
- Leon Garcia, A. (2016). *Determinación de la concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en Phaseolus vulgaris L. cultivar DOR 364*. Recuperado el 06 de Junio de 2020, de Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6632/Tesis%20Aidelyn%2012-6....97-2003.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Lopez, E. (2011). *Universidad Internacional de Andalucía*. Recuperado el 31 de Diciembre de 2020, de Induccion de variabilidad genetica para tolerancia a estres abiotico mediante tecnicas de cultivo in vitro en *Cenchrus ciliaris* L.: <https://core.ac.uk/download/pdf/72021262.pdf>
- Lopez, J. (2004). Efecto de la temperatura y la presipitacion sobre en la eclosion de los huevos de *Aeneolamia postica* (Homoptera: Cercopide). *ResearchGate*, 1. Recuperado el 20 de Enero de 2021, de https://www.researchgate.net/publication/317563303_EFECTO_DE_LA_TEMPERATURA_Y_LA_PRECIPITACION_EN_LA_ECLOSION_DE_LOS_HUEVOS_DE_AE NEOLAMIA_POSTICA_WALKER_HOMOPTERA_CERCOPIDAE
- Lucia Cuarán, V. (2013). *Respuesta de variedades de la caña de azúcar (Saccharum Spp.) al ataque de las ninfas el salivazo Aeneolamia Varia (F.) (Hemiptera: Cercopidae)*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de <http://bdigital.unal.edu.co/22830/1/7715003.2013.pdf>
- Macas, I. (2018). *Evaluacion d ela eficacia de aislamientos nativos de Metarhizium spp. en el control de ninfas de Mahanarva andigena de la caña de azucar*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de <http://201.159.223.17/bitstream/123456789/350/1/T.AGROP.B.UEA.1089.pdf>
- Manzano, S., Jamilena, M., Valenzuela, J. L., & García, A. (2 de Febrero de 2017). *Mutaciones útiles para la mejora genética de hortícolas*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Canales sectoriales Horticultura: <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/169148-Mutaciones-utiles-para-la-mejora-genetica-de-hortícolas.html>

- Martinez Vilorio, F. (10 de Febrero de 2019). *Info pastos y forrajes*. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de Ficha Técnica Pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*): <https://infopastosyforrajes.com/pasto-de-pastoreo/pasto-janeiro-erichloa-polystachya/>
- Martinez, F. (10 de febrero de 2019). *Ficha Técnica Pasto janeiro*. Recuperado el 30 de Noviembre de 2019, de Pasto de pastoreo: https://infopastosyforrajes.com/pasto-de-pastoreo/pasto-janeiro-erichloa-polystachya/#Origen_y_descripcion_del_pasto_janeiro
- Mendoza , J., Mejía, K., & Gualle, D. (2004). *El salivazo de la caña de azucar*. El Triunfo: CINCAE. Recuperado el 22 de Noviembre de 2020, de <https://cincae.org/wp-content/uploads/2013/05/Publicaci%C3%B3n-T%C3%A9cnica-N%C2%B0-4-Salivazo.pdf>
- Messmer, M., Wilbois, K., & Baier, C. (2015). En *Técnicas de Mejora Vegetal* (pág. 16). Sociedad Española De Agricultura Ecológica (SEAE). Recuperado el 27 de Junio de 2020, de <https://shop.fibl.org/chde/mwdownloads/download/link/id/976/>
- Molina, I. A. (10 de Enero de 2020). Estación Meteorológica Faciag/UTB. (I. Cortez, Entrevistador)
- Moran, M. (2019). “*Evaluación de parámetros productivos y agronómicos del pasto janeiro (Eriochloa polystachya), con cuatro periodos de aplicación de fertilizantes en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos*”. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Universidad Técnica de Babahoyo: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6179/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000068.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mostafa, G. (2015). Efecto de algunos mutágenos químicos sobre el crecimiento, la composición fitoquímica y la inducción de mutaciones en *Khaya senegalensis*. *Revista internacional de fitomejoramiento y genética*(9), 57-67. doi:10.3923 / ijbpg.2015.57.67
- Nakayama, H. D., González, M. C., Oggero, A. S., & Britos, R. M. (2018). Fitomejoramiento participativo del ka'a he'ë. *Consejo nacional de ciencias y tecnología*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de <https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/Manual-Fitomejoramiento.pdf>
- Novak, & Brunner. (1992). *Fitotecnia: tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Fitotécnica por mutaciones.: <http://www.cea.go.cr/informacion/HOJA%20INFORMATIVA%20MUTACIONES%20INDUCIDAS.pdf>
- Ortiz Lopez, J. (2018). *Evaluación agronómica del control de salivazo (Mahanarva bipars) en dos variedades de pasto: micay (Axonopus micay) y kikuyo (Pennisetum clandestinum) mediante métodos físico y químico*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/4373/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000087.pdf;jsessionid=8CE859D4CCDF832DC039B0EA33168D96?sequence=1>
- Peralta, L. (9 de Diciembre de 2016). *Evaluación de las edades de corte en pasto janeiro (Eriochloa polystachya) para el proceso de ensilado en la zona de Vinces*. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20808>

- Perez, J., Perez, Y., & Alvarez, J. (2018). Control Biológico del Salivazo de la Caña de Azúcar *Aeneolamia* spp. con el Nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* y los Hongos Entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* como Opción Económica y Sostenible. 55(1), 21-27. doi:10.5377/ceiba.v55i1.5447
- Portillo, G. (2018). *La fenología*. Recuperado el 21 de Febrero de 2021, de Meteorología en RED: <https://www.meteorologiaenred.com/fenologia.html>
- Poveda Arias, J. (18 de Febrero de 2018). *Insectos agrícolas*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Cuaderno de cultura científica: <https://culturacientifica.com/2018/02/18/los-insectos-agricolas/>
- Prina, A., Landau, A., Hopp, H., & Pacheco. (2010). Mutagénesis, TILLING y EcoTILLING. Capítulo 4, Parte II. (e. G. al, Ed.) *ResearchGate*, 217-228. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de https://www.researchgate.net/publication/282176537_Mutagenesis_TILLING_y_EcoTILLING_Capitulo_4_Parte_II
- Quijano Cabrera, Y. (Octubre de 2014). *Control de insectos en pasturas y forrajes*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de El Servicio de Extensión Agrícola, Colegio de Ciencias Agrícolas, Recinto de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico en cooperación con el: <https://www.uprm.edu/cms/index.php?a=file&fid=7017>
- Rajabi, A., Gharib, S., & Kamal, S. (2016). Estudio de los rasgos de plantas mutantes de menta utilizando mutagénesis EMS de mutágeno. *Nueva revista de biotecnología celular y molecular*, 6(24), 87-96. Recuperado el 27 de Junio de 2020, de <http://ncmbjpiu.ir/article-1-898-en.html>
- Rendon, R. (2011). *Longitud de raíz y valor nutricional de cinco variedades de pastos en diferentes estados de madurez*. Obtenido de Universidad Tecnica Estatal de Quevedo : <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/4687/1/T-UTEQ-0467.pdf>
- Riera, J. (2019). *Características morfológicas del pasto janeiro (Eriochloa polystachya), en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos*. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6131/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000187.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodriguez, J. (2003). Biología del salivazo *Prosapia simulans* (Homoptera: Cercopidae), nueva plaga de gramíneas cultivadas en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 29(2), 149-155. Recuperado el 9 de Febrero de 2021, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v29n2/v29n2a06.pdf>
- Rojas, L., Collado, R., & Leon, A. (Septiembre de 2016). Concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'DOR 364' para inducir variaciones fenotípicas. *Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV.*, 16(3), 179 - 188. Recuperado el 30 de Noviembre de 2019, de Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV.: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/526/html>
- Rojas, V. (2015). *Protocolo para la multiplicación in vitro e inducción de mutaciones en Polyscias scutellaria cv. "Fabian"*. Recuperado el 29 de Junio de 2020, de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3854/1/39002.pdf>

- Shirasawa, K., Hirakawa, H., & Nunome, T. (2015). Estudio de todo el genoma de mutaciones artificiales inducidas por metanosulfonato de etilo y rayos gamma en tomate. *Plant Biotechnology Journal*. doi: <https://doi.org/10.1111/pbi.12348>
- Soraluz Cubas, L. (2015). “Inducción de mutaciones en centeno (*Secale cereale linneo*) empleando radiación gamma”. Recuperado el 18 de Febrero de 2021, de Universidad Nacional Agraria la Molina:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1421/F30-S67-T.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Sotelo, G., & Cardona, C. (s.f.). *Manejo integrado del salivazo de los pastos con énfasis en resistencia varietal*. Recuperado el 19 de Enero de 2021, de CIAT:
<https://assets.publishing.service.gov.uk/media/57a08db740f0b652dd001b06/R6606r.pdf>
- Suthakar, V., & Mullainathan, L. (2015). Studies on Effect of Physical and Chemical Mutagens in Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in M2 Generation". *International Letters of Natural Sciences*, 37, 46-50.
doi:<https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.37.46>
- Torres, L. (2016). *Controladores biológicos de insectos plaga de importancia agrícola del cultivo de caña de azúcar (Saccharum officinarum)*. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de
<http://cia.uagraria.edu.ec/archivos/TORRES%20JARAMILLO%20LUIS%20ANTONIO.pdf>
- Ulloa Briones, M. C. (2016). “Determinación de la incidencia de las principales plagas de la caña de azúcar (*Saccharum spp.*) en el cantón Pangua, provincia Cotopaxi”. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Universidad Técnica Estatal de Quevedo:
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1644/1/T-UTEQ-0030.pdf>
- Universidad Autónoma de Ciudad. (2012). *Hoja tecnica de divulgacion*. Recuperado el 15 de febrero de 2021, de Introducción a las plagas:
<http://www3.uacj.mx/ICB/UEB/Documents/Hojas%20tecnicas/HOJA%20TECNICA%20PLAGAS.pdf>
- Valarezo Pacheco, A. V. (2015). *Detección temprana de mutantes de banano tolerantes o resistentes a Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis, Morelet) en condiciones de vivero*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Universidad Técnica de Babahoyo:
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/1073/T-UTB-FACIAG-AGROP-000046.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Valle, S., Iparraquirre, M., & Caicedo, W. (2018). Evaluación del ciclo de vida del salivazo Mahanarva andigena sobre plántulas de caña de azúcar. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 7(1), 1-13. Recuperado el 25 de Junio de 2020, de
<https://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/1916>
- Vargas, C. (2016). *Generacion de un protocolo para inducir variantes geneticas en cafe (Coffe arabica L.) mediante induccion de mutaciones con el uso de agentes quimicos*. Obtenido de Universidad de Costa Rica:
<http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3896/1/40163.pdf>

- Vargas, J., Gomez, S., & Hernando, L. (2000). Determinación de la dosis óptima del mutágeno químico etilmetanosulfonato (EMS) para el tratamiento de meristemos de plátano hartón común y dominico hartón (*Musa AAB Simmonds*). *CAA. Revista UDCA*, 3(2), 8-16. Recuperado el 29 de Junio de 2020, de Bióloga Investigadora. Directora Lab. Biotecnología : <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/2792>
- Velasquez, J. (6 de Septiembre de 2013). *Mutaciones espontaneas*. Recuperado el 15 de Febrero de 2021, de Slideshare: <https://es.slideshare.net/elamigo077/mutaciones-espontaneas>
- Ximing, C., & Yunli , H. (2018). Método para crear un mutante de frijol rojo mediante el uso de un agente mutagénico EMS (sulfato de metileno) y su aplicación. *Académico de Microsoft*. Recuperado el 27 de Junio de 2020, de [https://academic.microsoft.com/paper/2933929683/related/search?q=Method%20for%20creating%20red%20kidney%20bean%20mutant%20by%20using%20EMS%20\(Ethy%20Methan%20Sulfonate\)%20mutagenic%20agent%20and%20application%20thereof&qe=Or\(Id%253D2394207587%252CId%253D2](https://academic.microsoft.com/paper/2933929683/related/search?q=Method%20for%20creating%20red%20kidney%20bean%20mutant%20by%20using%20EMS%20(Ethy%20Methan%20Sulfonate)%20mutagenic%20agent%20and%20application%20thereof&qe=Or(Id%253D2394207587%252CId%253D2)

ANEXOS

ANEXO 1. Imágenes sobre el estudio realizado en pasto janeiro.



Figura 4. Reactivos - EMS



Figura 5. Traje de protección.



Figura 6. Preparación de las dosis del EMS



Figura 12. Campana extractora de gases



Figura 11. Extracción del EMS



Figura 10. Siembra de los estolones impregnados con EMS.



Figura 9. Estolones impregnados 24 horas



Figura 8. Desarrollo en bandejas germinadoras



Figura 7. Altura de la planta - pasto janeiro



Figura 21. Altura de los estolones - Janeiro



Figura 20. Desarrollo a los 30 días



Figura 19. Llenado de fundas - trasplante



Figura 18. Trasplante del pasto Janeiro



Figura 17. Pasto Janeiro bajo invernadero



Figura 16. Medición altura de la planta



Figura 15. Largo de la hoja



Figura 14. Ancho de la hoja



Figura 13. Búsqueda del Insecto - Bucay



Figura 22. Inoculación de ninfas en pasto janeiro



Figura 24. Ninfas de salivazo



Figura 23. Conteo de las Ninfas



Figura 25. Presencia de Salivazo en diversas plantas y tratamientos.

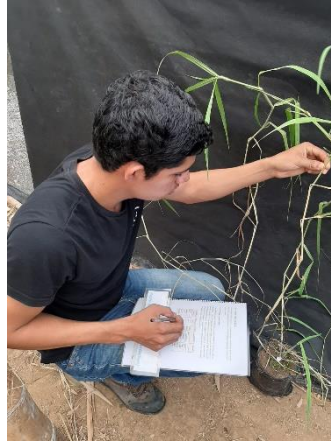


Figura 27. Evaluación de vigor



Figura 26. Conteo de ninfas en pasto janeiro

ANEXO 2. Modelo estadístico de regresión.

Análisis Probit - DL50 EMS JANEIRO.MORTALIDAD 24 horas

Variable dependiente: DL50 EMS JANEIRO.MORTALIDAD

Tamaños de muestra: DL50 EMS JANEIRO.CASOS PLANTAS TOTAL

Factores: DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%)

Modelo Estimado de Regresión (Máxima Verosimilitud)

	Error	
Parámetro	Estimado	Estándar
CONSTANTE	-0,797923	0,0911411
DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%)	1,60861	0,151104

Análisis de Desviación

Fuente	Desviación	Gl	Valor-P
Modelo	121,945	1	0,0000
Residuo	86,0831	13	0,0000
Total (corr.)	208,028	14	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 58,6195

Porcentaje ajustado = 56,6967

Pruebas de Razón de Verosimilitud

Factor	Chi-Cuadrada	Gl	Valor-P
DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%)	121,945	1	0,0000

Análisis de Residuos

	Estimación	Validación
n	15	
CME	0,642362	
MAE	0,128154	
MAPE		
ME	0,0118859	
MPE		

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión probit para describir la relación entre DL50 EMS JANEIRO.MORTALIDAD y 1 variable(s) independiente(s).

La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{DL50 EMS JANEIRO.MORTALIDAD} = \text{normal}(\eta)$$

en donde

$$\eta = -0,797923 + 1,60861 * \text{DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS} (\%)$$

Como el valor-P de la tabla de Análisis de Desviaciones es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables, con un nivel de confianza del 95,0%. Además, el valor-P para los residuos es menor que 0,05, indicando que el modelo es significativamente peor que el mejor modelo posible para estos datos con un nivel de confianza del 95,0%.

Esta ventana también muestra que el porcentaje de desviación de DL50 EMS JANEIRO.MORTALIDAD explicado por el modelo es igual a 58,6195%. Este estadístico es similar al estadístico R-Cuadrada habitual. El porcentaje ajustado, que es

más apropiado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 56,6967%.

Para determinar si el modelo puede ser simplificado, note que el valor-P más alto para las pruebas de verosimilitud es 0,0000, que pertenece a DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%). Como el valor-P es menor que 0,05, ese término es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95,0%. Consecuentemente, usted probablemente no quisiera eliminar ninguna variable del modelo.

Tabla de Predicciones Inversas para DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%)

		<i>LC Inferior 95,0%</i>	<i>LC Superior 95,0%</i>
<i>Porcentaje</i>	<i>DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%)</i>	<i>Límite Conf.</i>	<i>Límite Conf.</i>
0,1	-1,42504	-1,86467	-1,12042
0,5	-1,10524	-1,47378	-0,849285
1,0	-0,950151	-1,28437	-0,717626
2,0	-0,780688	-1,07759	-0,573589
3,0	-0,67317	-0,946527	-0,48207
4,0	-0,592288	-0,848021	-0,413137
5,0	-0,526497	-0,767962	-0,356997
6,0	-0,470498	-0,699877	-0,309156
7,0	-0,421399	-0,640229	-0,267159
8,0	-0,377435	-0,586868	-0,229509
9,0	-0,337453	-0,538381	-0,195225
10,0	-0,300649	-0,493789	-0,163626
15,0	-0,148269	-0,309705	-0,0322587
20,0	-0,0271629	-0,164296	0,0730432
25,0	0,0767355	-0,040568	0,164403
30,0	0,170039	0,0692917	0,247698
35,0	0,256499	0,169488	0,326489
40,0	0,338542	0,262473	0,403345
45,0	0,417919	0,349768	0,480374
50,0	0,496033	0,432478	0,559373
55,0	0,574147	0,511743	0,641818
60,0	0,653524	0,589003	0,728881
65,0	0,735566	0,666041	0,821684
70,0	0,822026	0,744967	0,921746
75,0	0,91533	0,828359	1,03151
80,0	1,01923	0,919789	1,15517
85,0	1,14033	1,02514	1,30052
90,0	1,29271	1,15655	1,48457
91,0	1,32952	1,18816	1,52915
92,0	1,3695	1,22245	1,57763
93,0	1,41346	1,2601	1,63099
94,0	1,46256	1,30211	1,69063
95,0	1,51856	1,34995	1,75871
96,0	1,58435	1,4061	1,83876
97,0	1,66524	1,47504	1,93726
98,0	1,77275	1,56656	2,06832
99,0	1,94222	1,71061	2,27509
99,5	2,09731	1,84228	2,46449
99,9	2,4171	2,11342	2,85537

El StatAdvisor

Esta tabla muestra las predicciones inversas obtenidas del modelo ajustado. Las predicciones inversas indican el valor de DL50 EMS JANEIRO.DOSIS EMS (%) al cual el modelo alcanza ciertos porcentajes. Por ejemplo, el valor correspondiente a p=50% (LD50) es igual a 0,496033. También se muestran intervalos fiduciarios aproximados de confianza para las predicciones inversas.

Análisis Probit - B.MORTALIDAD – 48 horas

Variable dependiente: B.MORTALIDAD

Tamaños de muestra: B.CASOS PLANTAS TOTAL

Factores: B.DOSIS EMS (%)

Modelo Estimado de Regresión (Máxima Verosimilitud)

	<i>Error</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Estimado</i>	<i>Estándar</i>
CONSTANTE	-0,952779	0,0986653
B.DOSIS EMS (%)	2,94161	0,201294

Análisis de Desviación

<i>Fuente</i>	<i>Desviación</i>	<i>Gl</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	299,206	1	0,0000
Residuo	76,5732	13	0,0000
Total (corr.)	375,779	14	

Porcentaje de desviación explicado por el modelo = 79,6228

Porcentaje ajustado = 78,5584

Pruebas de Razón de Verosimilitud

<i>Factor</i>	<i>Chi-Cuadrada</i>	<i>Gl</i>	<i>Valor-P</i>
B.DOSIS EMS (%)	299,206	1	0,0000

Análisis de Residuos

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
n	15	
CME	0,353963	
MAE	0,108185	
MAPE		
ME	0,0303571	
MPE		

El StatAdvisor

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión probit para describir la relación entre B.MORTALIDAD y 1 variable(s) independiente(s). La ecuación del modelo ajustado es

B.MORTALIDAD = normal(eta)

en donde

eta = -0,952779 + 2,94161*B.DOSIS EMS (%)

Como el valor-P de la tabla de Análisis de Desviaciones es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables, con un nivel de confianza del 95,0%. Además, el valor-P para los residuos es menor que 0,05, indicando que el modelo es significativamente peor que el mejor modelo posible para estos datos con un nivel de confianza del 95,0%.

Esta ventana también muestra que el porcentaje de desviación de B.MORTALIDAD explicado por el modelo es igual a 79,6228%. Este estadístico es similar al estadístico R-Cuadrada habitual. El porcentaje ajustado, que es más apropiado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 78,5584%.

Para determinar si el modelo puede ser simplificado, note que el valor-P más alto para las pruebas de verosimilitud es 0,0000, que pertenece a B.DOSIS EMS (%). Como el valor-P es menor que 0,05, ese término es estadísticamente significativo al nivel de confianza del 95,0%. Consecuentemente, usted probablemente no quisiera eliminar ninguna variable del modelo.

Tabla de Predicciones Inversas para B.DOSIS EMS (%)

		<i>LC Inferior 95,0%</i>	<i>LC Superior 95,0%</i>
<i>Porcentaje</i>	<i>B.DOSIS EMS (%)</i>	<i>Límite Conf.</i>	<i>Límite Conf.</i>
0,1	-0,726635	-0,905133	-0,589161
0,5	-0,551757	-0,704064	-0,434068
1,0	-0,466945	-0,606671	-0,358729
2,0	-0,374274	-0,500383	-0,276281
3,0	-0,315478	-0,433037	-0,223881
4,0	-0,271248	-0,382432	-0,184405
5,0	-0,235271	-0,341313	-0,152251
6,0	-0,204648	-0,306349	-0,124848
7,0	-0,177798	-0,275722	-0,100791
8,0	-0,153757	-0,248326	-0,0792234
9,0	-0,131892	-0,223435	-0,0595846
10,0	-0,111766	-0,200545	-0,0414846
15,0	-0,0284376	-0,106053	0,0337321
20,0	0,0377891	-0,0313713	0,0939305
25,0	0,0946057	0,0322854	0,145988
30,0	0,145629	0,0890142	0,193175
35,0	0,192909	0,141101	0,237381
40,0	0,237774	0,189985	0,27987
45,0	0,281181	0,236664	0,321596
50,0	0,323897	0,281898	0,363359
55,0	0,366614	0,326345	0,40591
60,0	0,410021	0,370646	0,450014
65,0	0,454886	0,415513	0,49652
70,0	0,502166	0,461841	0,546485
75,0	0,553189	0,510874	0,601367
80,0	0,610006	0,564514	0,663442
85,0	0,676233	0,626062	0,736774
90,0	0,759561	0,702447	0,830099
91,0	0,779687	0,720764	0,852771
92,0	0,801552	0,740617	0,877448
93,0	0,825593	0,762396	0,904632
94,0	0,852443	0,786665	0,935047
95,0	0,883066	0,81428	0,969799
96,0	0,919043	0,84665	1,0107
97,0	0,963273	0,886352	1,06108
98,0	1,02207	0,938998	1,12818
99,0	1,11474	1,02174	1,23417
99,5	1,19955	1,09728	1,33137
99,9	1,37443	1,25265	1,53216

El StatAdvisor

Esta tabla muestra las predicciones inversas obtenidas del modelo ajustado. Las predicciones inversas indican el valor de B.DOSIS EMS (%) al cual el modelo alcanza ciertos porcentajes. Por ejemplo, el valor correspondiente a p=50% (LD50) es igual a 0,323897. También se muestran intervalos fiduciaros aproximados de confianza para las predicciones inversas.

ANEXO 3. Análisis de varianza

altura 50 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
altura 50 días	100	0,76	0,71	11,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,72	18	0,04	14,51	<0,0001
Tratamiento	0,71	9	0,08	28,54	<0,0001
Repeticiones	0,01	9	1,3E-03	0,48	0,8816
Error	0,22	81	2,8E-03		
Total	0,94	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07632

Error: 0,0028 gl: 81

altura 65 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
altura 65 días	100	0,62	0,54	12,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,84	18	0,05	7,43	<0,0001
Tratamiento	0,80	9	0,09	14,08	<0,0001
Repeticiones	0,04	9	4,9E-03	0,78	0,6375
Error	0,51	81	0,01		
Total	1,35	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11532

Error: 0,0063 gl: 81

altura 80 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
altura 80 días	100	0,66	0,59	9,79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,38	18	0,08	8,87	<0,0001
Tratamiento	1,29	9	0,14	16,59	<0,0001
Repeticiones	0,09	9	0,01	1,15	0,3392
Error	0,70	81	0,01		
Total	2,08	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13520

Error: 0,0086 gl: 81

altura 95 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
altura 95 días	100	0,72	0,66	11,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,43	18	0,19	11,62	<0,0001
Tratamiento	3,23	9	0,36	21,92	<0,0001
Repeticiones	0,19	9	0,02	1,32	0,2393
Error	1,33	81	0,02		
Total	4,76	99			

Diámetro tallo 50 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro tallo 50 días	100	0,50	0,39	20,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,02	18	1,06	4,48	<0,0001
Tratamiento	18,21	9	2,02	8,59	<0,0001
Repeticiones	0,81	9	0,09	0,38	0,9406
Error	19,09	81	0,24		
Total	38,11	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,70636

Error: 0,2357 gl: 81

Diámetro del Tallo 65 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro del Tallo 65 días..	100	0,70	0,63	13,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	34,10	18	1,89	10,47	<0,0001
Tratamiento	30,25	9	3,36	18,58	<0,0001
Repeticiones	3,85	9	0,43	2,37	0,0199
Error	14,65	81	0,18		
Total	48,75	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,61879

Error: 0,1809 gl: 81

Diámetro del Tallo 80 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro del Tallo 80 días..	100	0,58	0,49	13,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	25,92	18	1,44	6,33	<0,0001
Tratamiento	24,16	9	2,68	11,79	<0,0001
Repeticiones	1,76	9	0,20	0,86	0,5649
Error	18,44	81	0,23		
Total	44,36	99			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69423

Error: 0,2277 gl: 81

Diámetro del Tallo 95 días

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Diámetro del Tallo 95 días..	100	0,55	0,45	13,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	28,68	18	1,59	5,57	<0,0001
Tratamiento	26,84	9	2,98	10,43	<0,0001
Repeticiones	1,84	9	0,20	0,72	0,6936
Error	23,16	81	0,29		
Total	51,84	99			

Número de hojas 50 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
N Hojas 50 días	100	0,35	0,20	14,71	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31,88	18	1,77	2,38	0,0043
Tratamiento	23,24	9	2,58	3,48	0,0011
Repeticiones	8,64	9	0,96	1,29	0,2538
Error	60,16	81	0,74		
Total	92,04	99			

Número de hojas 65 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
N hojas 65 días	100	0,39	0,25	11,47	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	32,32	18	1,80	2,85	0,0007
Tratamiento	27,36	9	3,04	4,82	<0,0001
Repeticiones	4,96	9	0,55	0,87	0,5513
Error	51,04	81	0,63		
Total	83,36	99			

Número de hojas 80 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
N hojas 80 días	100	0,49	0,37	10,35	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	50,48	18	2,80	4,24	<0,0001
Tratamiento	38,44	9	4,27	6,46	<0,0001
Repeticiones	12,04	9	1,34	2,02	0,0470
Error	53,56	81	0,66		
Total	104,04	99			

Número de hojas 95 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
N hojas 95 días	100	0,41	0,27	16,83	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	136,28	18	7,57	3,06	0,0003
Tratamiento	115,24	9	12,80	5,18	<0,0001
Repeticiones	21,04	9	2,34	0,95	0,4906
Error	200,16	81	2,47		
Total	336,44	99			

largo hoja 50 días

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R²</u>	<u>Aj</u>	<u>CV</u>
largo hoja 50 días	100	0,35	0,21	18,02	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	345,61	18	19,20	2,46	0,0032
Tratamiento	242,56	9	26,95	3,45	0,0012
Repeticiones	103,06	9	11,45	1,47	0,1745
Error	632,35	81	7,81		
Total	977,96	99			

largo hoja 65 días

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R²</u>	<u>Aj</u>	<u>CV</u>
largo hoja 65 día	100	0,31	0,16	13,94	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	415,52	18	23,08	2,05	0,0153
Tratamiento	344,92	9	38,32	3,41	0,0013
Repeticiones	70,60	9	7,84	0,70	0,7087
Error	910,15	81	11,24		
Total	1325,67	99			

largo hoja 80 días

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R²</u>	<u>Aj</u>	<u>CV</u>
largo hoja 80 días	100	0,41	0,28	9,43	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	459,08	18	25,50	3,13	0,0002
Tratamiento	422,78	9	46,98	5,77	<0,0001
Repeticiones	36,29	9	4,03	0,50	0,8737
Error	659,60	81	8,14		
Total	1118,68	99			

largo hoja 95 días

<u>Variable</u>	<u>N</u>	<u>R²</u>	<u>R²</u>	<u>Aj</u>	<u>CV</u>
largo día 95 días	100	0,41	0,28	8,45	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo	484,46	18	26,91	3,09	0,0003
Tratamiento	398,00	9	44,22	5,08	<0,0001
Repeticiones	86,46	9	9,61	1,10	0,3696
Error	704,85	81	8,70		
Total	1189,30	99			

ancho hoja 50 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
ancho hoja 50 días	100	0,28	0,12	24,69	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,03	18	0,06	1,77	0,0432
Tratamiento	0,65	9	0,07	2,26	0,0262
Repeticiones	0,37	9	0,04	1,29	0,2549
Error	2,61	81	0,03		
Total	3,64	99			

ancho hoja 65 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
ancho hoja 65 días	100	0,49	0,38	11,42	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,40	18	0,08	4,38	<0,0001
Tratamiento	1,16	9	0,13	7,28	<0,0001
Repeticiones	0,24	9	0,03	1,49	0,1672
Error	1,43	81	0,02		
Total	2,83	99			

ancho hoja 80 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
ancho hoja 80 días	100	0,62	0,54	9,90	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,54	18	0,14	7,37	<0,0001
Tratamiento	1,99	9	0,22	11,55	<0,0001
Repeticiones	0,55	9	0,06	3,19	0,0024
Error	1,55	81	0,02		
Total	4,09	99			

ancho hojas 95 días

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
ancho hojas 95 días	100	0,52	0,41	11,52	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,57	18	0,20	4,84	<0,0001
Tratamiento	3,05	9	0,34	8,26	<0,0001
Repeticiones	0,52	9	0,06	1,41	0,1975
Error	3,32	81	0,04		
Total	6,89	99			

Vigor de crecimiento a los 115 días.

TRATAMIENTOS										
N° DE PLANTAS	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	1,00	1,00	1,00	5,00	9,00	1,00	3,00	1,00	9,00	9,00
2	7,00	5,00	1,00	3,00	9,00	5,00	1,00	9,00	9,00	9,00
3	3,00	7,00	1,00	7,00	7,00	3,00	1,00	3,00	7,00	9,00
4	3,00	1,00	3,00	5,00	9,00	1,00	3,00	5,00	9,00	9,00
5	5,00	3,00	1,00	1,00	5,00	7,00	1,00	7,00	9,00	7,00
6	7,00	1,00	1,00	5,00	7,00	1,00	1,00	9,00	7,00	7,00
7	3,00	1,00	5,00	3,00	9,00	1,00	3,00	5,00	5,00	9,00
8	4,00	5,00	1,00	9,00	9,00	3,00	3,00	5,00	7,00	9,00
9	3,00	7,00	3,00	7,00	7,00	9,00	1,00	3,00	9,00	7,00
10	1,00	3,00	1,00	5,00	7,00	1,00	1,00	5,00	9,00	9,00
PROMEDIOS	3,70	3,40	1,80	5,00	7,80	3,20	1,80	5,20	8,00	8,40
Caracterización	Planta vigorosa	Plantas vigorosa	Plantas muy Vigorosas	Plantas intermedias o normales	Plantas menos vigorosas que lo normal	Plantas vigorosas	Plantas muy vigorosas	Plantas intermedias o normales	Plantas menos vigorosas que lo normal y plantas muy débiles y pequeñas	Plantas menos vigorosas que lo normal y plantas muy débiles y pequeñas

Número de Salivazo por plantas a los 60 días de inoculación

TRATAMIENTOS											
N° de Plantas	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	
1	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	2,00	1,00	2,00	0,00	0,00	
2	3,00	1,00	2,00	0,00	0,00	3,00	1,00	0,00	0,00	0,00	
3	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
4	2,00	1,00	1,00	0,00	0,00	2,00	2,00	0,00	0,00	0,00	
5	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	3,00	2,00	1,00	0,00	
6	3,00	3,00	1,00	0,00	0,00	2,00	2,00	0,00	0,00	0,00	
7	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	0,00	0,00	0,00	
8	2,00	2,00	1,00	0,00	0,00	2,00	1,00	1,00	0,00	0,00	
9	3,00	1,00	1,00	1,00	0,00	3,00	1,00	0,00	1,00	0,00	
10	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00	3,00	1,00	0,00	1,00	
Total 102,00 ninfas	19,00	15,00	13,00	4,00	2,00	20,00	17,00	7,00	3,00	2,00	
Promedio	2	2	1	0	0	2	2	1	0	0	

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N° de Salivazo	100	0,59	0,50	64,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	51,12	18	2,84	6,60	<0,0001
Tratamiento	48,56	9	5,40	12,54	<0,0001
Repeticiones	2,56	9	0,28	0,66	0,7412
Error	34,84	81	0,43		
Total	85,96	99			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,95425

Error: 0,4301 gl: 81

Tratamiento	Medias	n	E.E.						
10	0,20	10	0,21	A					
5	0,20	10	0,21	A					
9	0,30	10	0,21	A					
4	0,40	10	0,21	A	B				
8	0,70	10	0,21	A	B	C			
3	1,30	10	0,21		B	C	D		
2	1,50	10	0,21			C	D		
7	1,70	10	0,21				D		
1	1,90	10	0,21					D	
6	2,00	10	0,21						D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Severidad de la plaga (Salivazo) por planta a los 60 días.

TRATAMIENTOS										
N° de plantas	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
1	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	2,00	1,00	2,00	0,00	0,00
2	3,00	1,00	2,00	0,00	0,00	3,00	1,00	0,00	0,00	0,00
3	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
4	2,00	1,00	1,00	0,00	0,00	2,00	2,00	0,00	0,00	0,00
5	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00	3,00	0,00	1,00	0,00
6	3,00	3,00	1,00	0,00	0,00	2,00	2,00	0,00	0,00	0,00
7	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	0,00	0,00	0,00
8	2,00	2,00	1,00	0,00	0,00	2,00	1,00	1,00	0,00	0,00
9	3,00	1,00	1,00	0,00	0,00	3,00	1,00	0,00	1,00	0,00
10	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	2,00	3,00	1,00	0,00	1,00
Promedio por plantas	2	2	1	0	0	2	2	1	0	0
Caracterización	Moderado	Moderado	Leve	Sin daño	Sin daño	Moderado	Moderado	Leve	Sin daño	Sin daño

ANEXO 4. Gráficos estadísticos

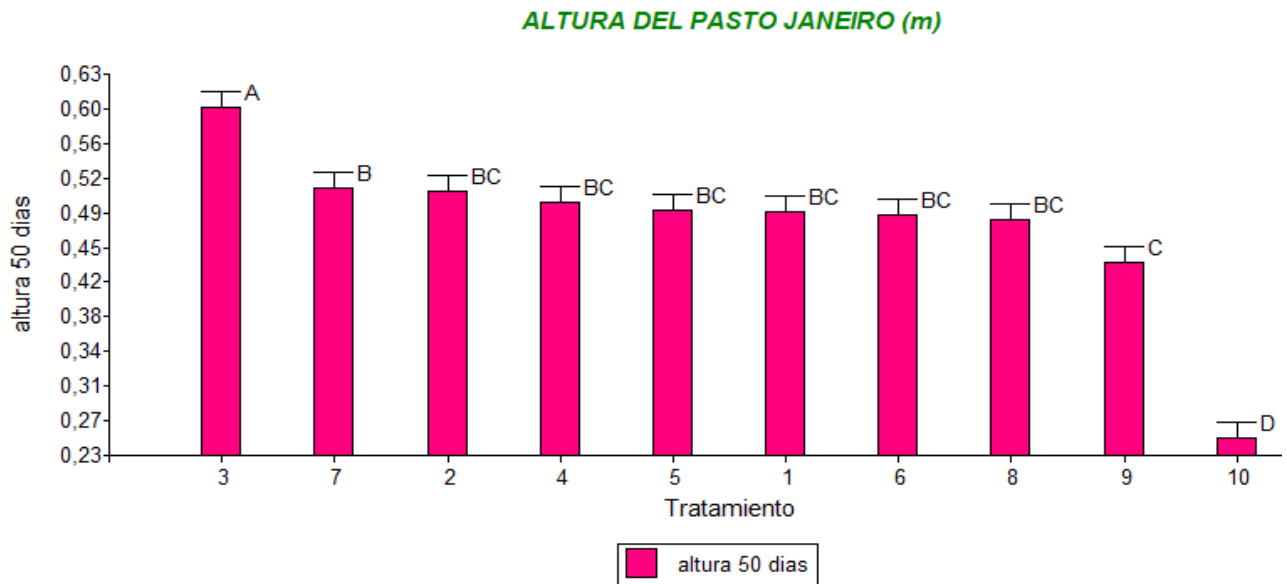


Grafico 2. Fuente: Altura a los 50 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

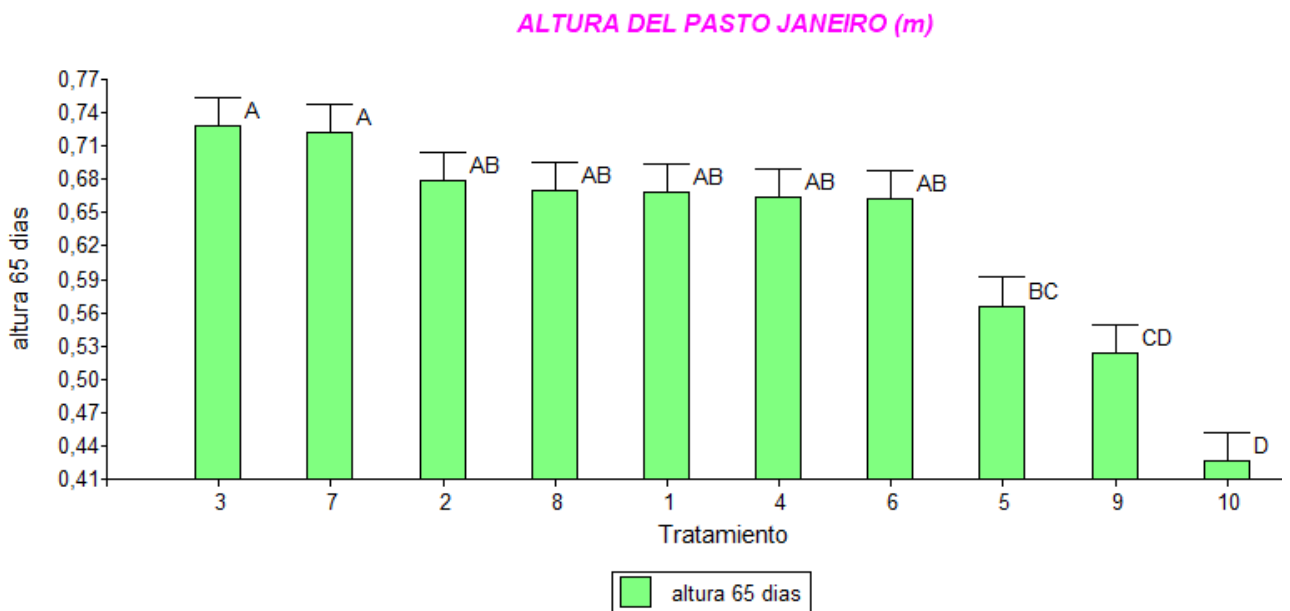


Grafico 3. Fuente: Altura a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero

ALTURA DEL PASTO JANEIRO (m)

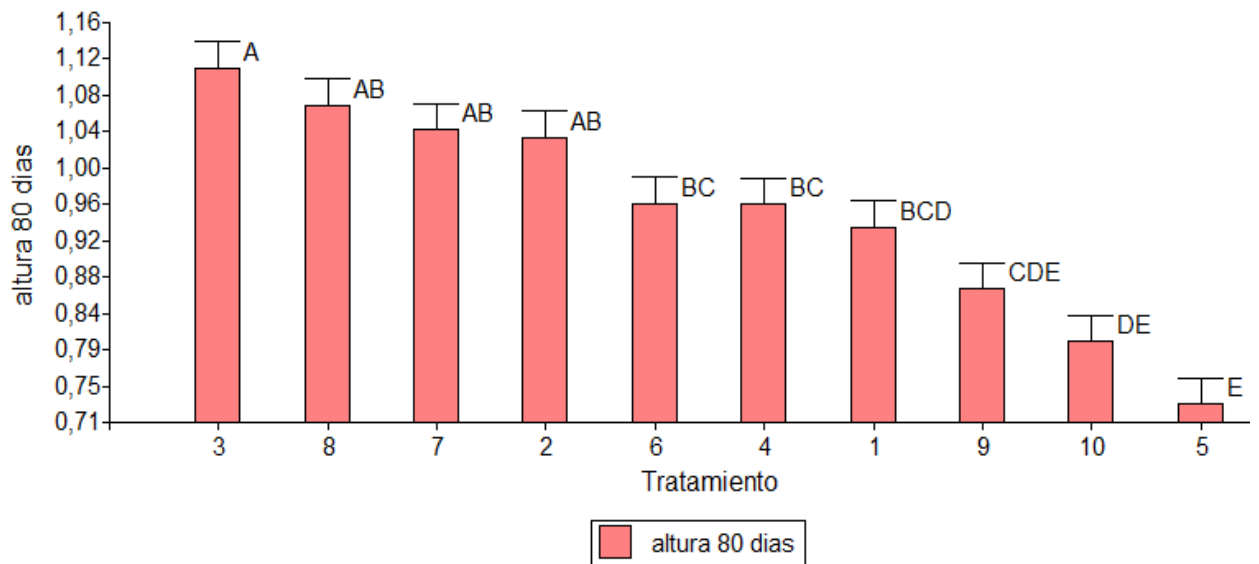


Grafico 4. Fuente: *Altura a los 80 días con mutagénesis inducida en Eriochloa polystachya mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andigena bajo condiciones de invernadero.*

ALTURA DEL PASTO JANEIRO (m)

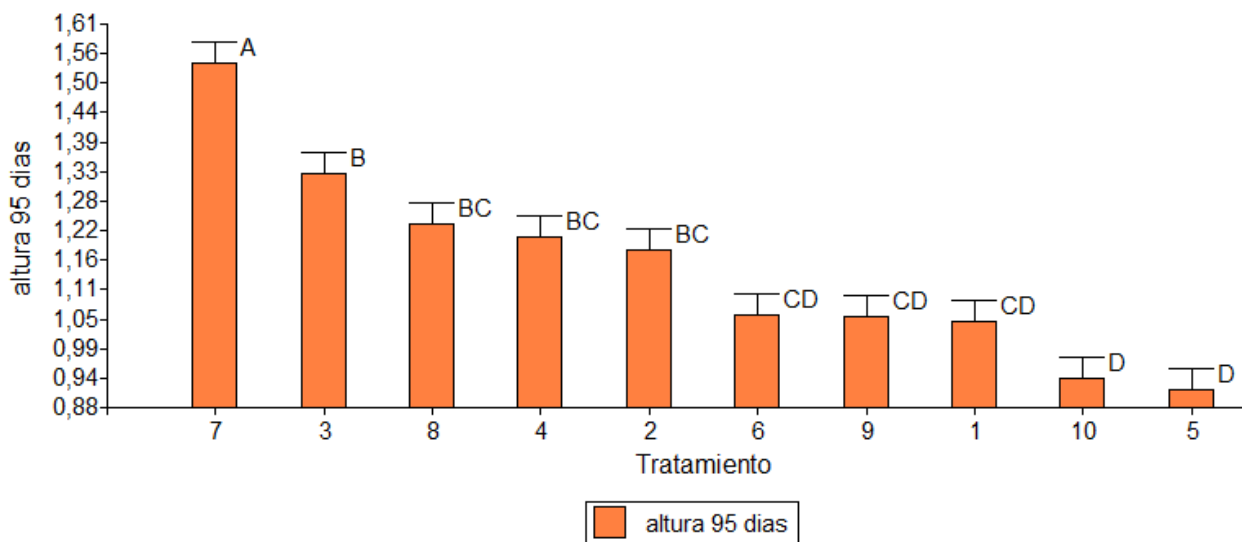


Grafico 5. Fuente: *Altura a los 95 días con mutagénesis inducida en Eriochloa polystachya mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andigena bajo condiciones de invernadero.*

NUMERO DE HOJAS EN PASTO JANEIRO

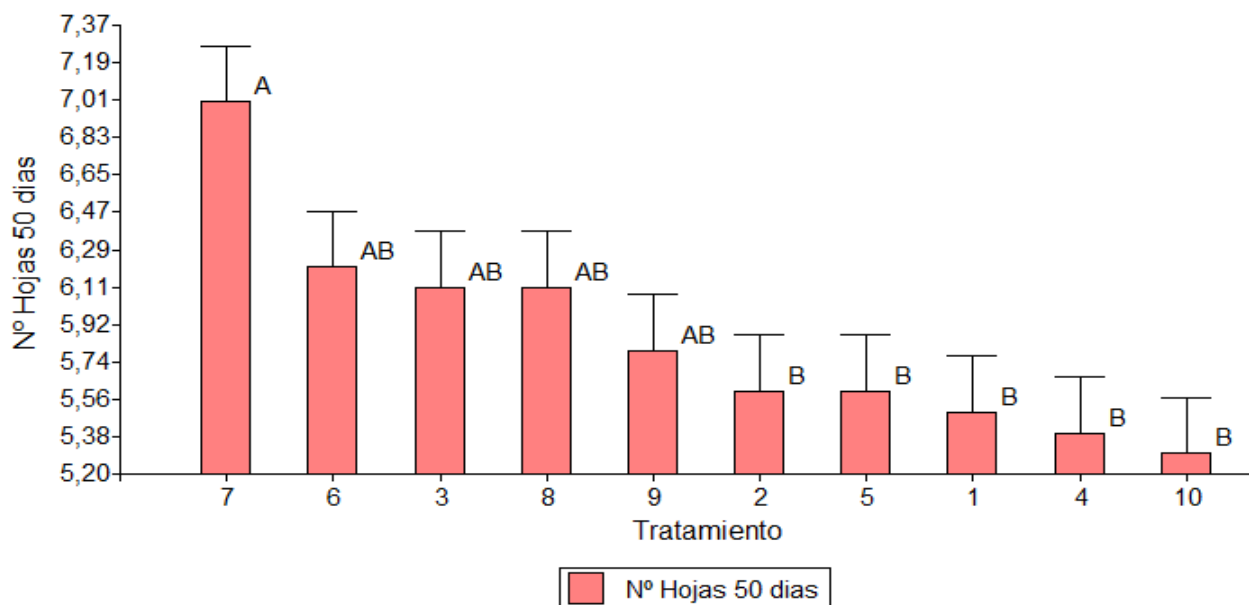


Grafico 6. Fuente: Numero de hojas a los 50 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

NUMERO DE HOJAS EN PASTO JANEIRO

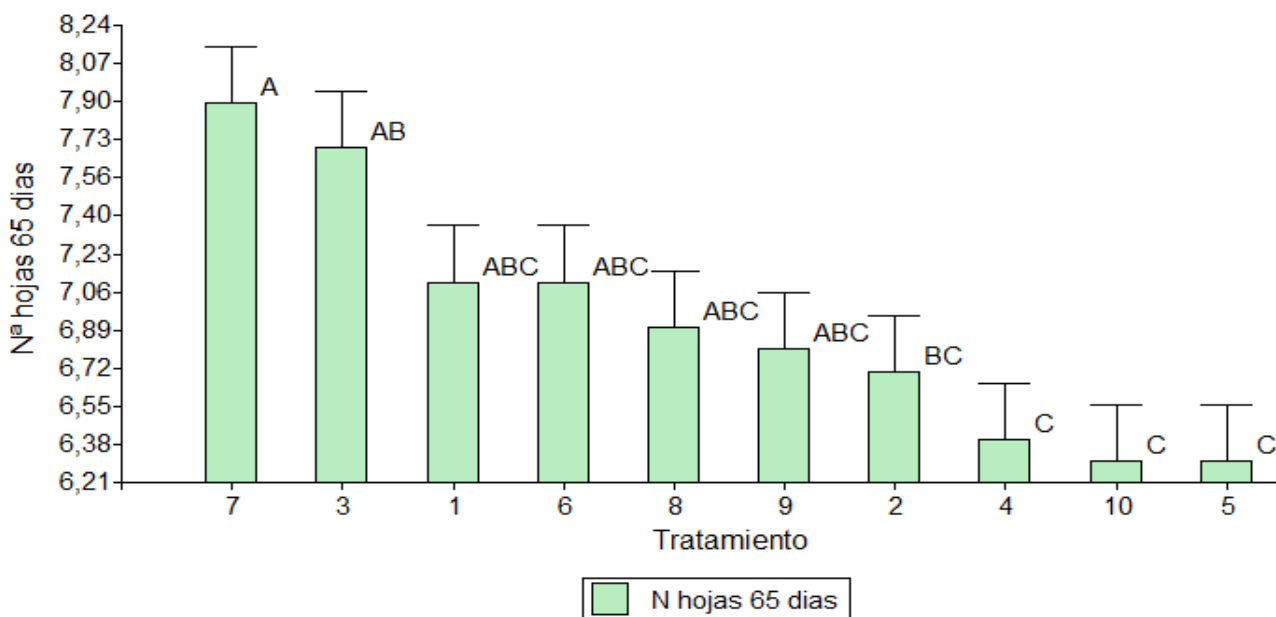


Grafico 7. Fuente: Numero de hojas a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

NUMERO DE HOJAS EN PASTO JANEIRO

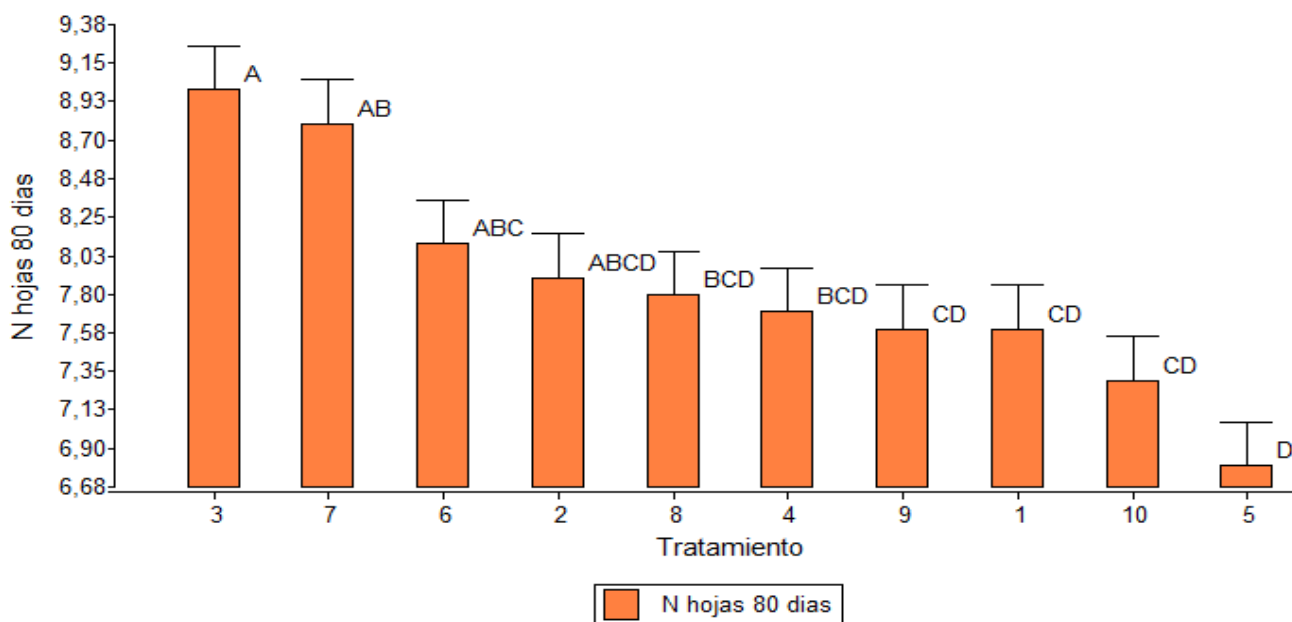


Grafico 8. Fuente: Numero de hojas a los 80 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

NUMERO DE HOJAS EN PASTO JANEIRO

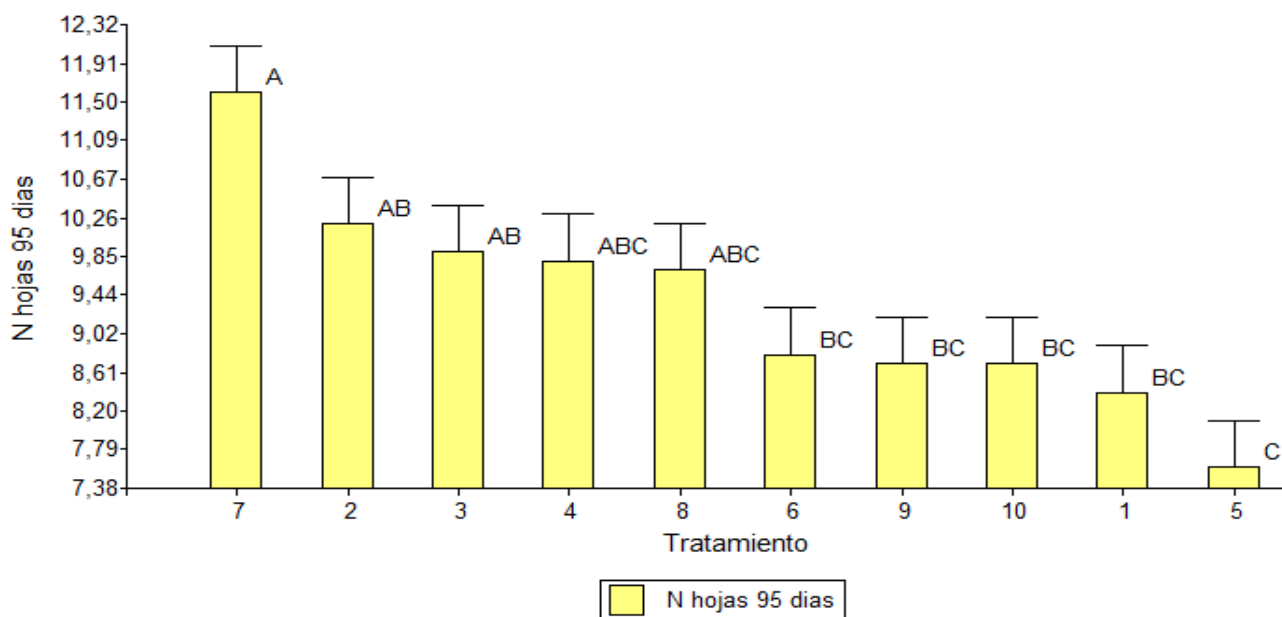


Grafico 9. Fuente: Numero de hojas a los 95 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

DIAMETRO DEL TALLO mm

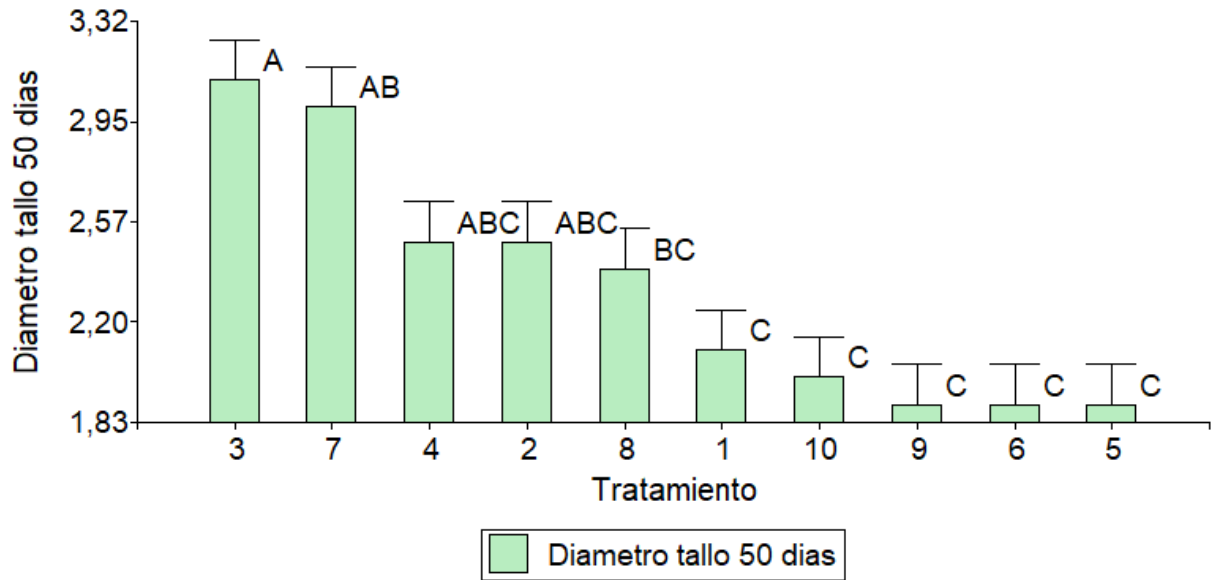


Grafico 10. Fuente: Diámetro del tallo a los 50 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

DIAMETRO DEL TALLO mm

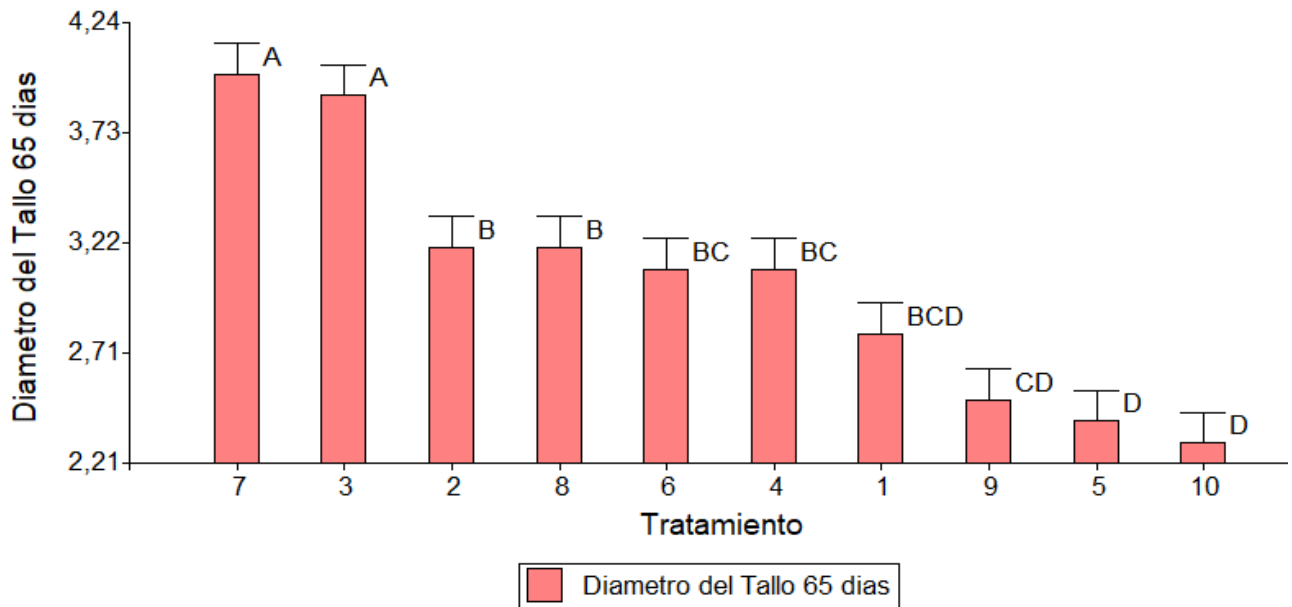


Grafico 11. Fuente: Diámetro del tallo a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

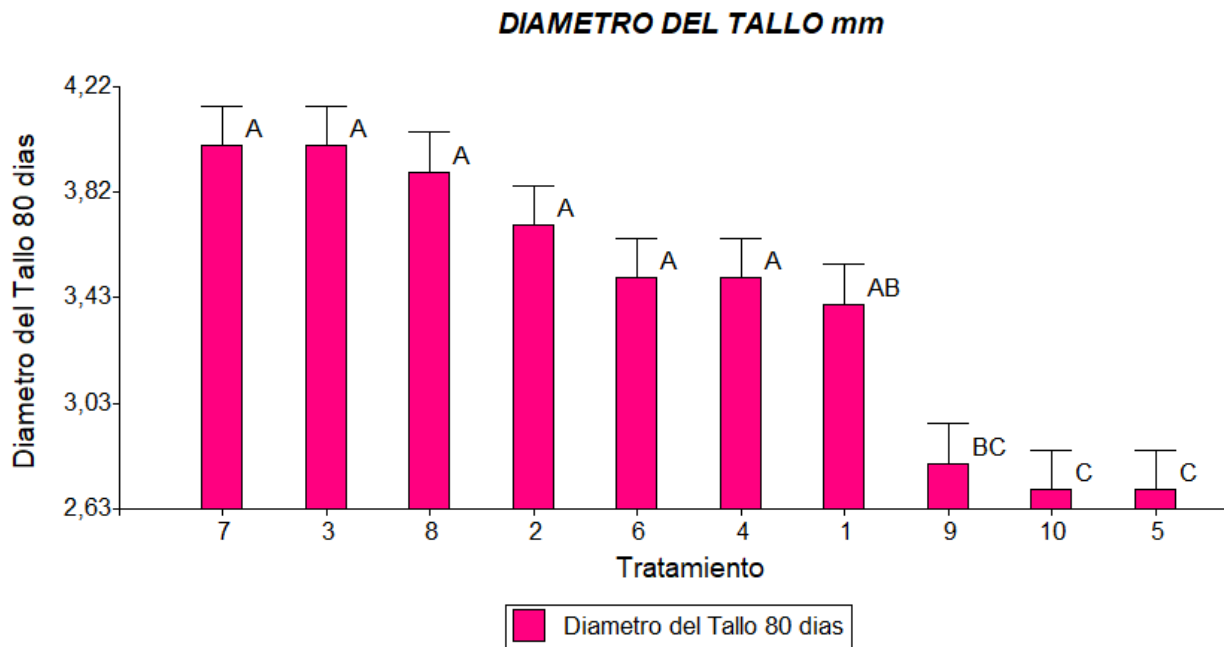


Grafico 12. Fuente: Diámetro del tallo a los 80 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

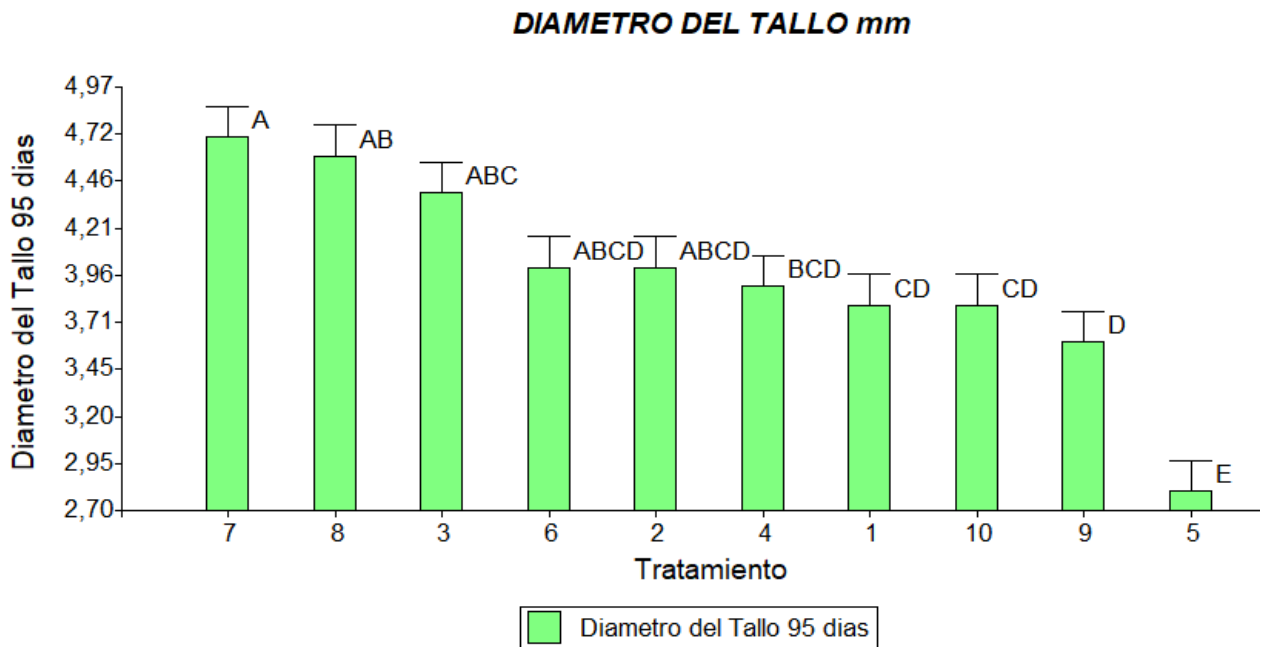


Grafico 13. Fuente: Diámetro del tallo a los 95 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

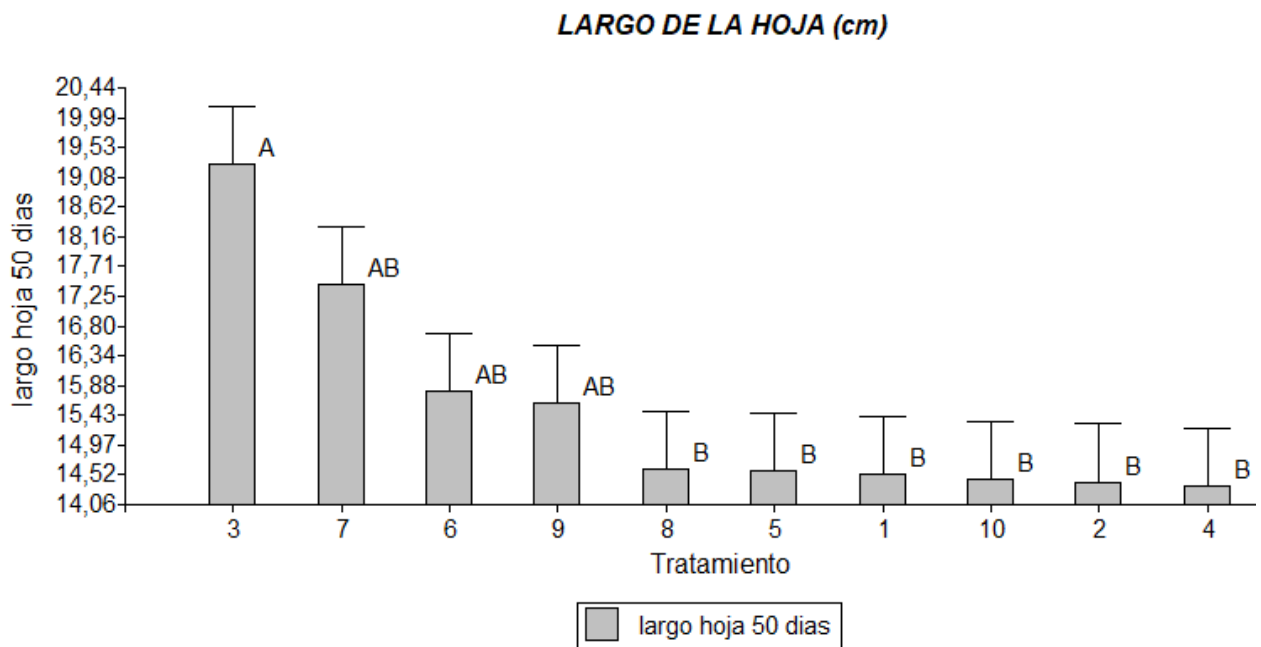


Grafico 14. Fuente: Largo de la hoja a los 50 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

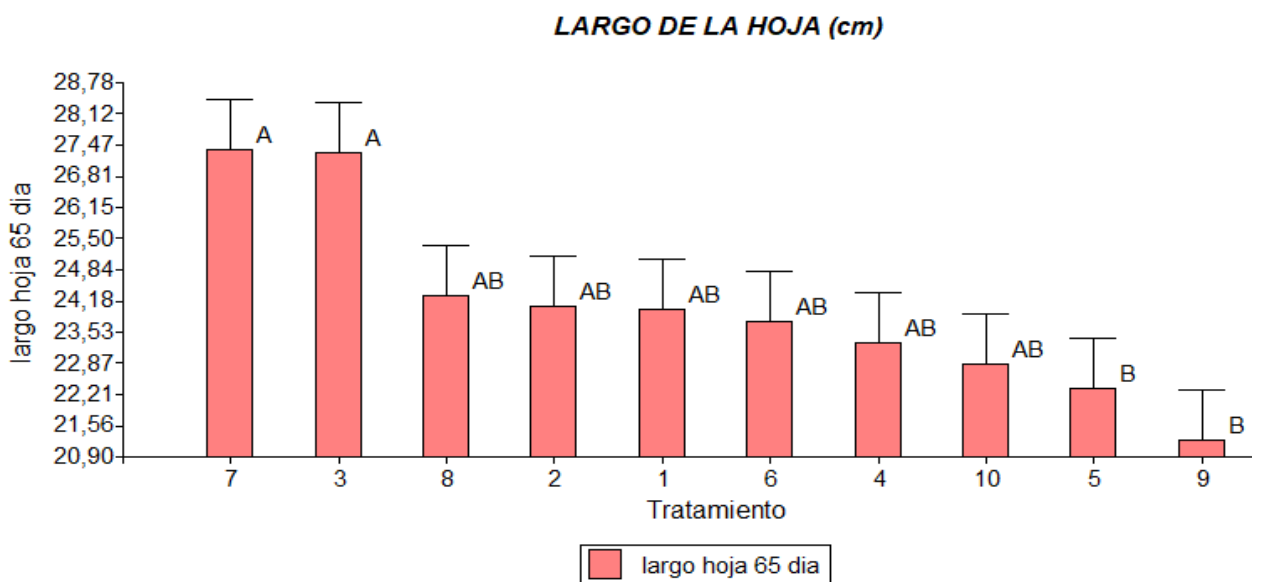


Grafico 15. Fuente: Largo de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

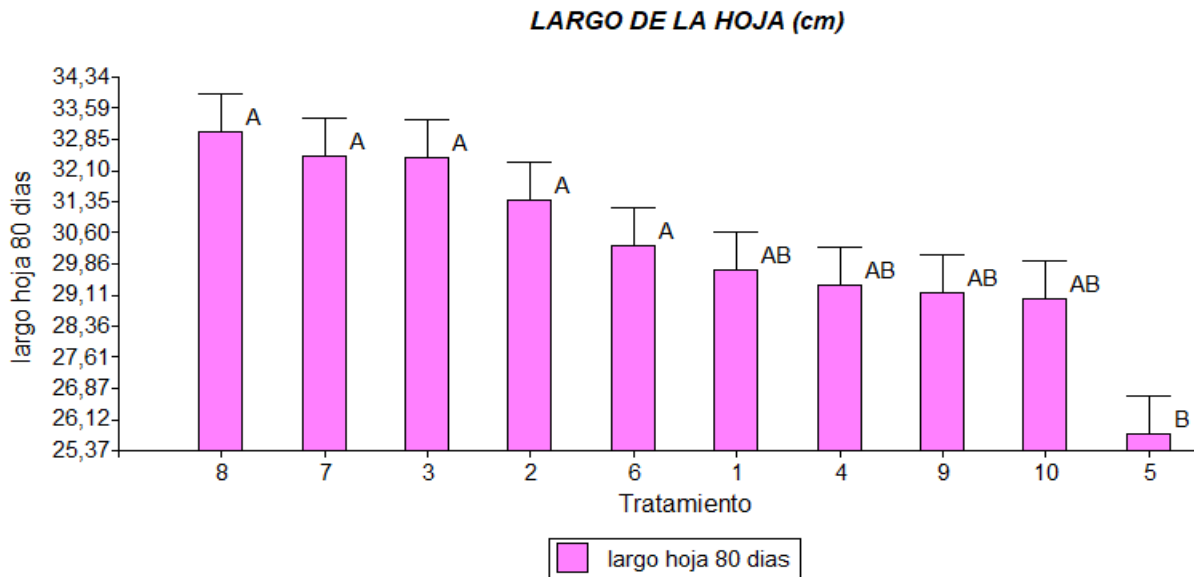


Grafico 16. Fuente: Largo de la hoja a los 80 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

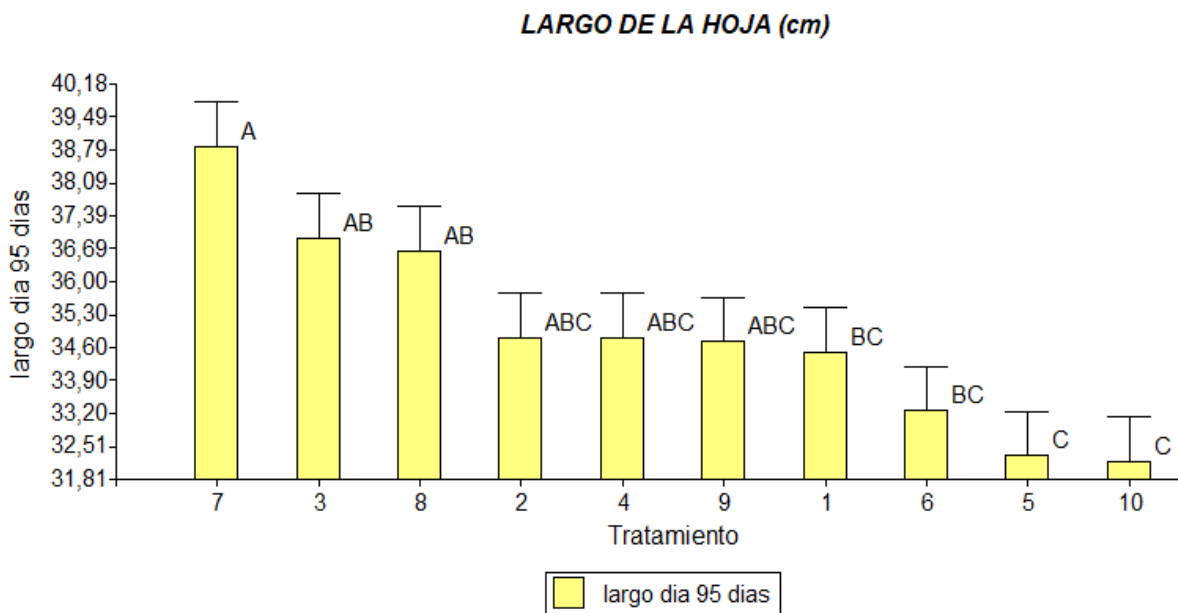


Grafico 17. Fuente: Largo de la hoja a los 95 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

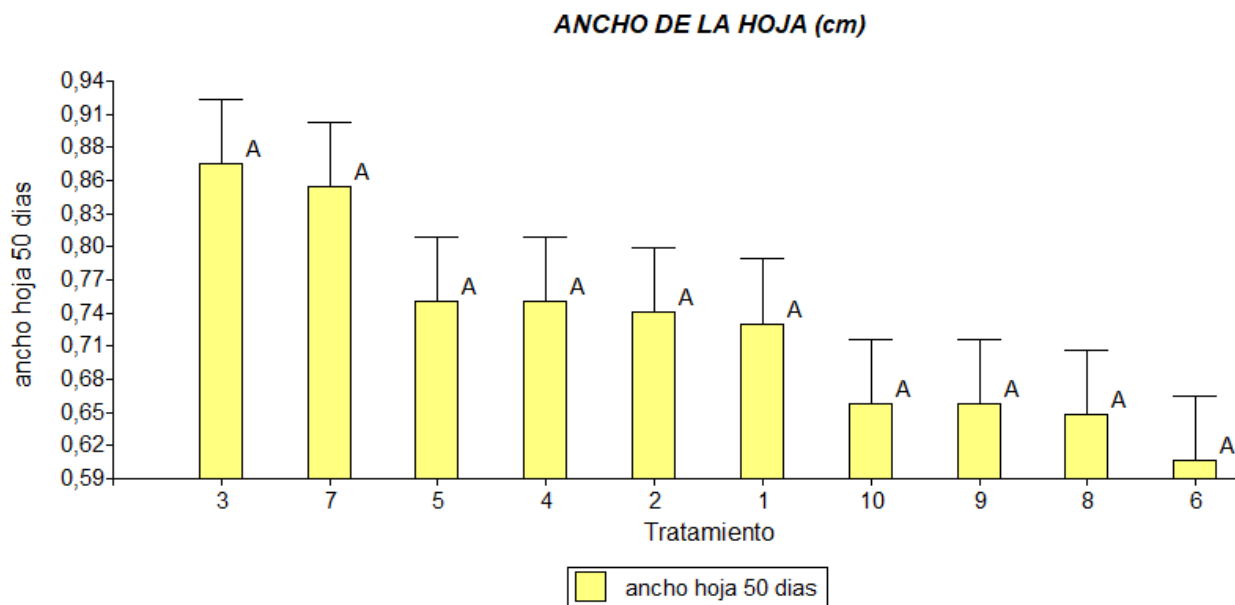


Grafico 18. Fuente: Ancho de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

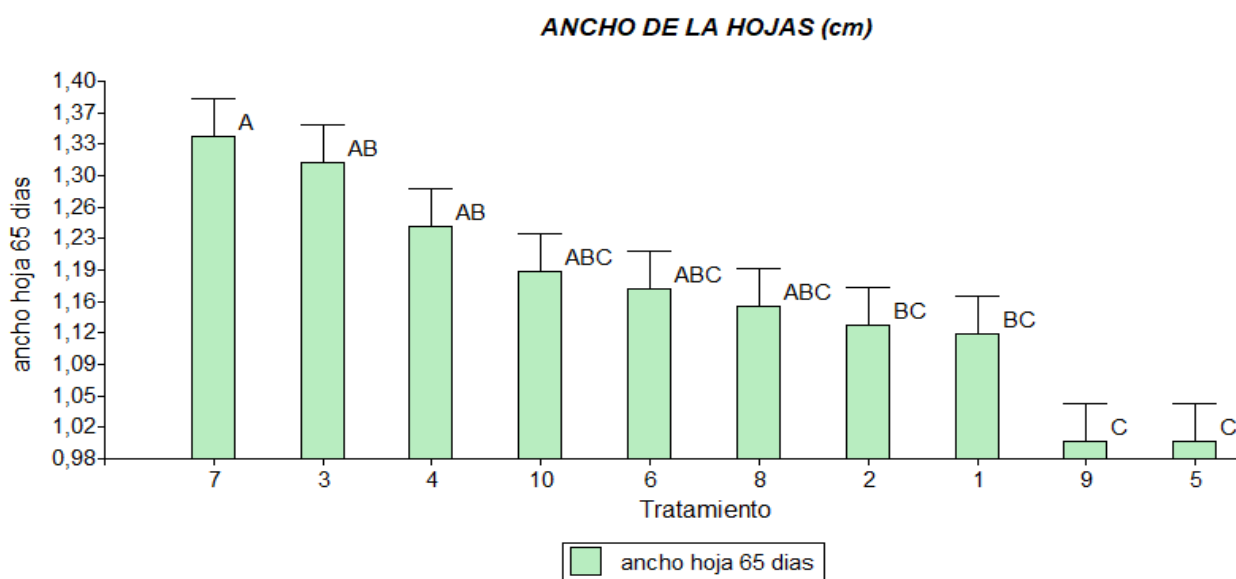


Grafico 19. Fuente: Ancho de la hoja a los 65 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

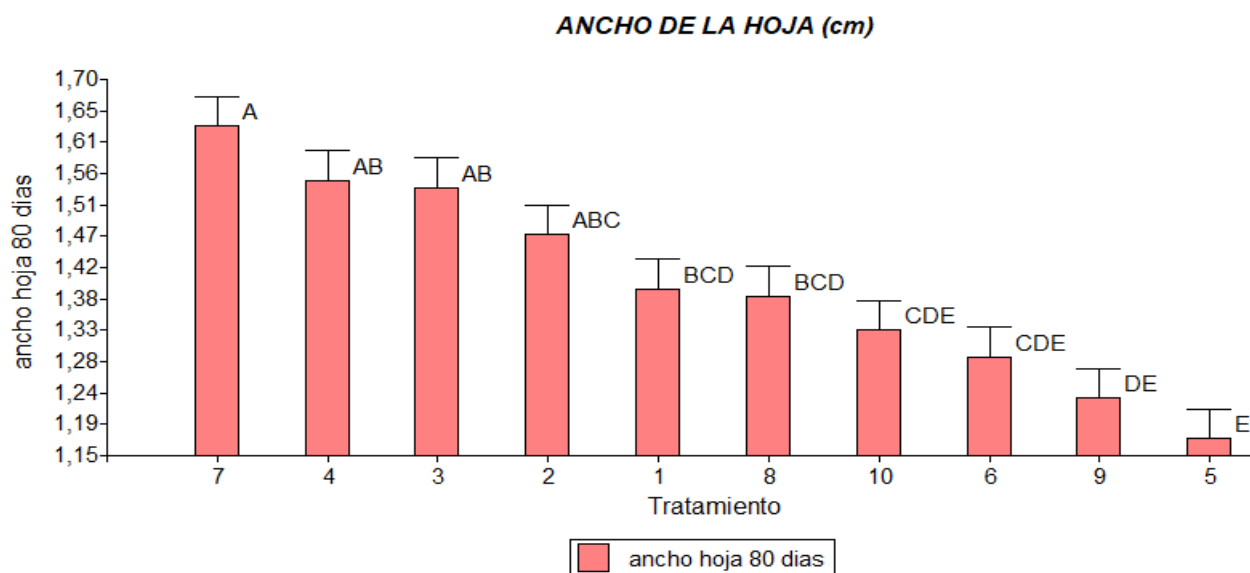


Grafico 20. Fuente: Ancho de la hoja a los 80 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

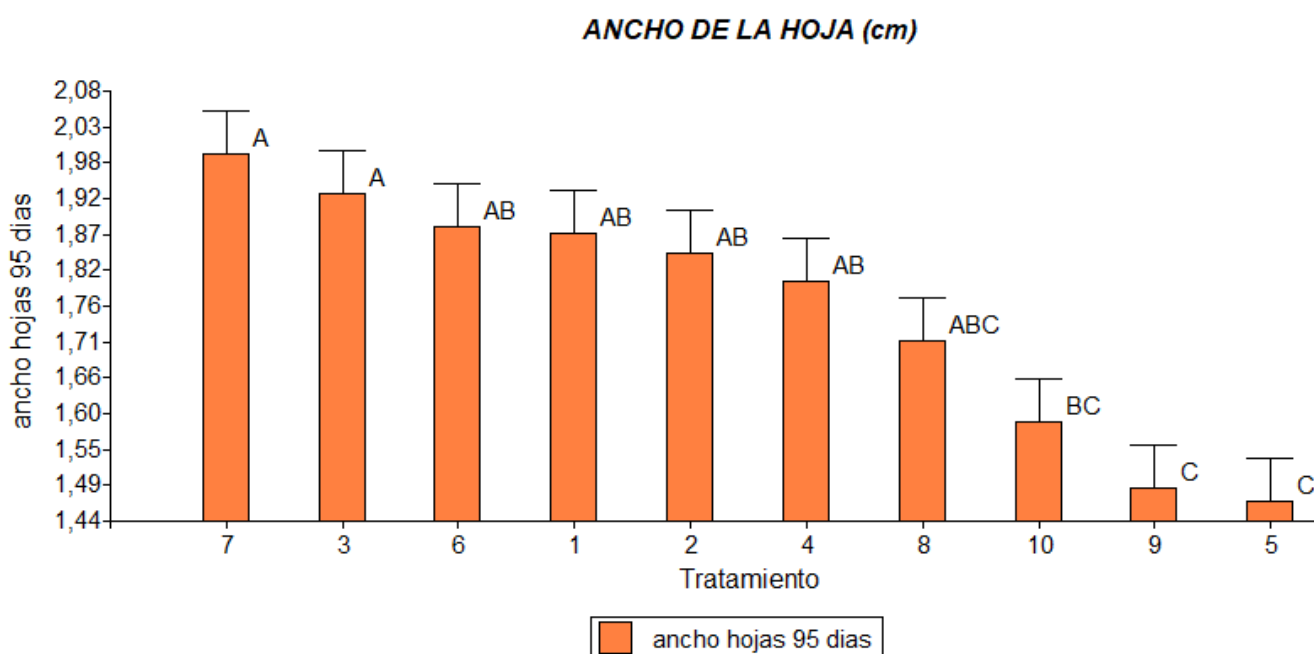


Grafico 21. Fuente: Ancho de la hoja a los 95 días con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

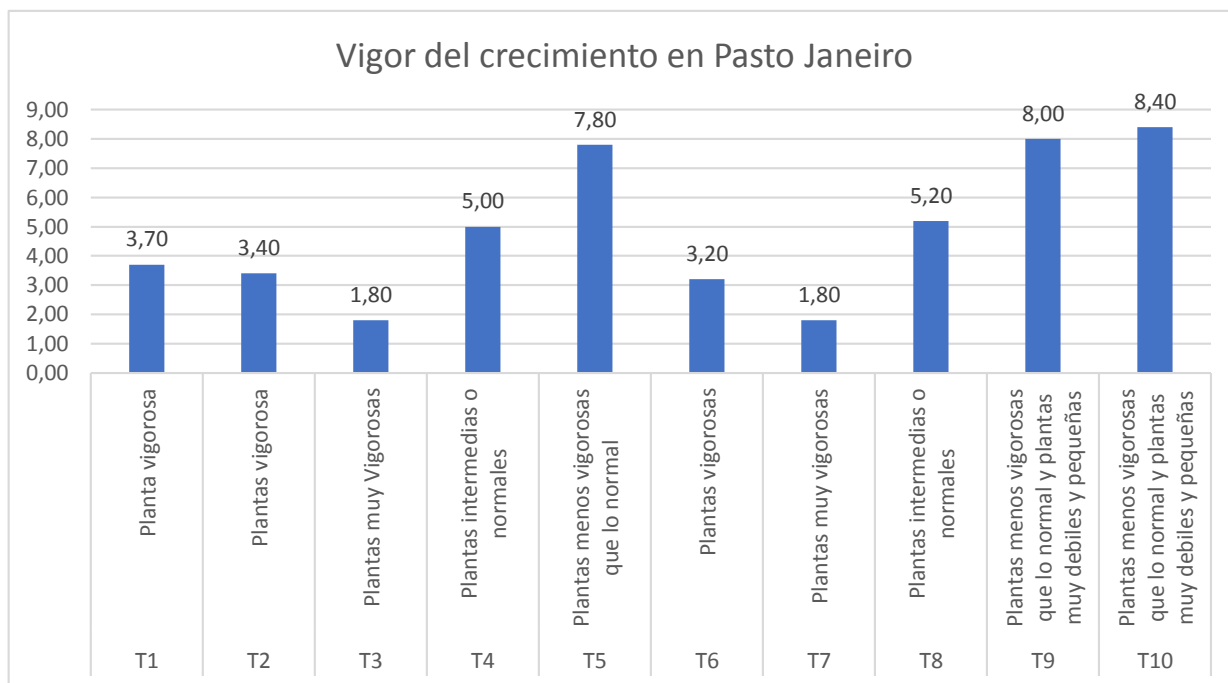


Grafico 22. Fuente: Vigor del crecimiento con mutagénesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

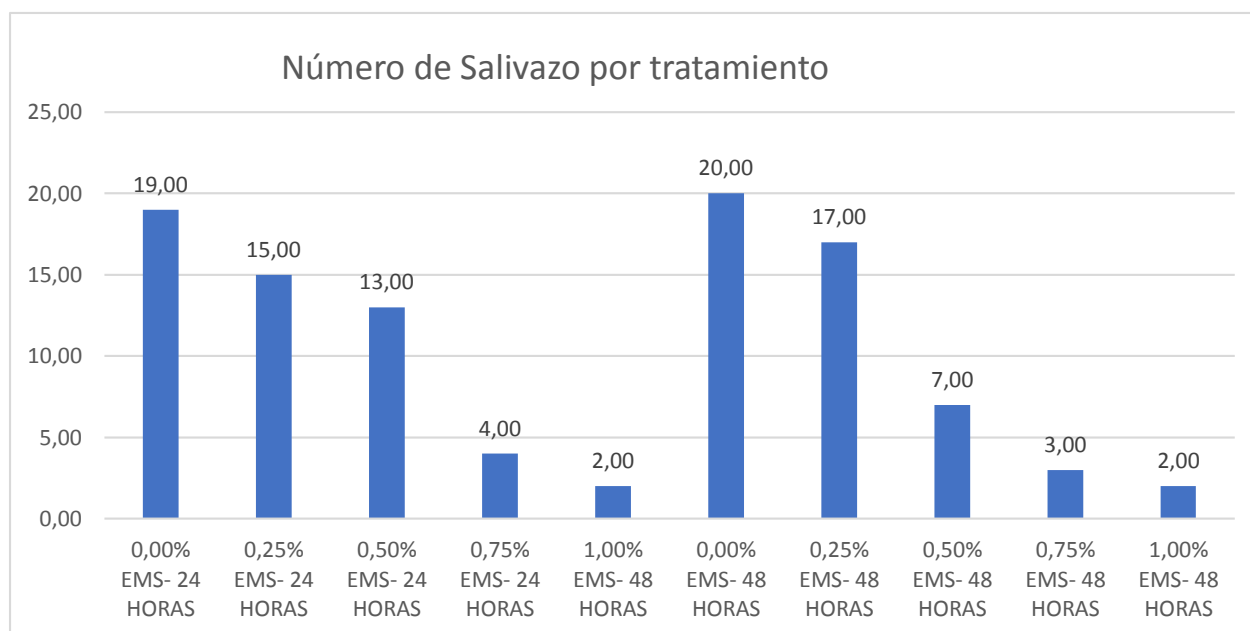


Grafico 23. Fuente: Número de salivazo en pasto janeiro con mutagénesis inducida mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.

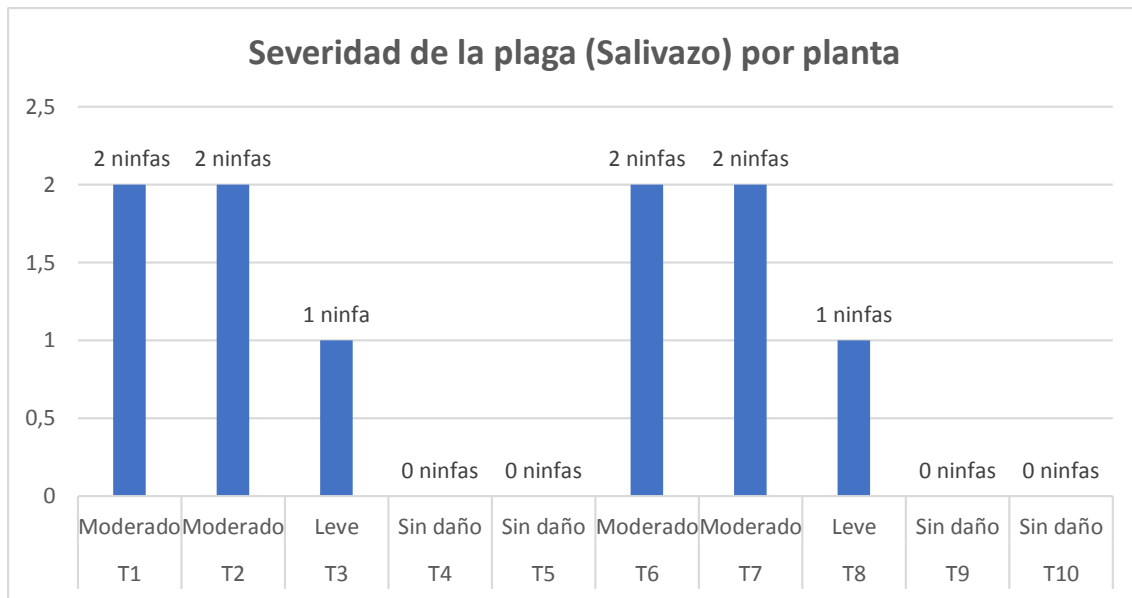


Grafico 24. Fuente: Severidad de la plaga en pasto janeiro inducida mediante etil-metasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condiciones de invernadero.