



**MORPHOLOGICAL EVALUATION OF  
GENERATIONS M1 AND M2 OF  
TRITICUM AESTIVUM L. (WHEAT  
GRAIN); USE OF GAMMA RADIATION,  
ITS EFFECTS ON ABSORPTION OF  
NUTRIENTS AND MINERALS**

**EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS  
GENERACIONES M1 Y M2 DE TRITICUM  
AESTIVUM L. (TRIGO) PROVENIENTES  
DE SEMILLA IRRADIADA CON Co-60 Y  
SU EFECTO SOBRE LA ABSORCIÓN DE  
NUTRIENTES Y MINERALES**

Received 12 08 2016  
Accepted 04 19 2017  
Published 04 30 2017

Vol. 34, No.1, pp. 1-8, Ene./Abr. 2017  
34(1), 1-8, Jan./Apr. 2017  
Bolivian Journal of Chemistry

Full original article

Edgar Gómez<sup>1,\*</sup>, María T. Aguilar<sup>1</sup>, Nora Mamani<sup>2</sup>, Heidi R. Mamani<sup>1</sup>, Bianca Guzmán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Aplicaciones Nucleares CIAN, Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear IBTEN, Viacha, Prolongación Simón Bolívar s/n, phone +59122800095- 2433481, La Paz, Bolivia.

<sup>2</sup>Carrera de Ingeniería Agronómica, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés UMSA, Edificio Lisímaco Gutiérrez, Héroes del Acre N° 1850 Tel: +59122411477 - 2491558

Keywords: Irradiación, Mutágeno, Trigo, Generación M1 y M2, Micronutrientes, Gray (Gy).

**ABSTRACT**

The use of mutagenic agents both physical and chemical as generators of variability (mutagenesis) are a tool for the genetic improvement of plant species of economic interest, optimizing some characteristics of a consolidated variety without altering most of the characteristics that are favorable. In the present work, the determination of the average lethal dose and evaluation of the M1 and M2 generations of wheat seeds (*Triticum aestivum*) of the variety "TEPOCA T-89" irradiated with 100, 200 and 300Gy were carried out. In the M1 generation, the 145Gy dose was identified as the inducer of the highest number of mutations. Mean values of plant height, tenon length, number of grains and grain weight were higher in the plants coming from seeds irradiated with 100Gy, of this same population, possible mutant plants with morphological modifications were selected, the growth values reduced to "0", in the highest dose of 300Gy since no plant survived. In the M2 generation the growth values were also high for the population of 100Gy, and for plants with morphological modification, which maintained their character of modification. At 200 Gy of irradiation the Na and K content does not present significant changes but the Ca, Mg, Zn, protein, humidity and ash content decreases because at high doses the growth of the plant is inhibited and there is a decrease in the absorption of nutrients and minerals.

\*Corresponding author: [gomezvedgar@gmail.com](mailto:gomezvedgar@gmail.com)



## RESUMEN

**Spanish title:** *Evaluación morfológica de las generaciones M1 y M2 de *Triticum aestivum* L. (grano de trigo); uso de radiación gamma, su efecto sobre la absorción de nutrientes y minerales.* El uso de agentes mutágenos tanto físicos y químicos como generadores de variabilidad (mutagénesis) constituyen una herramienta para el mejoramiento genético de especies vegetales de interés económico, optimizando algunas características de una variedad consolidada sin alterar la mayoría de los caracteres que son favorables. En el presente trabajo se realizó la determinación de la dosis letal media y seguimiento de las generaciones M1 y M2, de semillas de trigo (*Triticum aestivum*) de la variedad "TEPOCA T-89", irradiadas con 100, 200 y 300Gy. En la generación M1 se identificó la dosis de 145Gy como inductora de la mayor cantidad de mutaciones, los valores medios de altura de planta, longitud de espiga, número de granos y peso de grano fueron superiores en las plantas provenientes de semilla irradiada con 100Gy, de esta misma población se seleccionaron posibles plantas mutantes con modificaciones morfológicas, los valores de crecimiento se redujeron a "0", en la dosis más alta de 300Gy ya que ninguna planta sobrevivió. En la generación M2 los valores de crecimiento también fueron altos para la población de 100Gy, y para plantas con modificación morfológica que mantuvieron su carácter de modificación. A 200 Gy de irradiación el contenido de Na y K no presenta cambios significativos, pero disminuye el contenido de Ca, Mg, Zn, proteína, humedad y ceniza debido a que a dosis altas se inhibe el crecimiento de la planta existiendo una disminución en la absorción de nutrientes y minerales.

## INTRODUCCION

El uso de la irradiación como mutágeno físico en el mejoramiento de especies vegetales, se remonta a 1930 [1] Varios investigadores ya habían incursionado en este campo para diferentes cultivos quedando por explorar más el efecto de la aplicación recurrente de los agentes mutagénicos a la semilla y en especial de las radiaciones gamma de Cobalto 60 [2].

Mediante la aplicación de la irradiación sobre las semillas o cualquier estructura vegetal se produjeron nuevas variedades de cereales que presenta ventajas como: rendimiento, resistencia a plagas y mayor calidad nutritiva. En las plantas la dosis de radiación aplicada depende en gran medida del grado de hidratación del tejido o semilla debido a que la radiación interactúa fundamentalmente con las moléculas de agua formando radicales libres que al ser altamente reactivos interactúan con el ADN provocando cambios y arreglos en los pares bases [3].

Los minerales tienen numerosas funciones en el organismo humano y forman parte de la estructura de muchos tejidos. Los principales minerales en el cuerpo humano son: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, manganeso, hierro, yodo, flúor, zinc, cobalto y selenio [4]. Aunque estos nutrientes se necesitan en cantidades muy pequeñas, son sin embargo, elementos alimentarios esenciales para la salud.

En el presente trabajo se realizó la evaluación de *Triticum aestivum* (trigo, generaciones M1 y M2) con radiación gamma a diferentes dosis y se vio el efecto sobre la absorción de nutrientes y minerales.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Generación M1*

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA (Tabla1), muestran que existen diferencias altamente significativas entre los diversos tratamientos para el porcentaje de germinación y supervivencia a los 15 días en semillas irradiadas a 0,100, 200 y 300Gy.

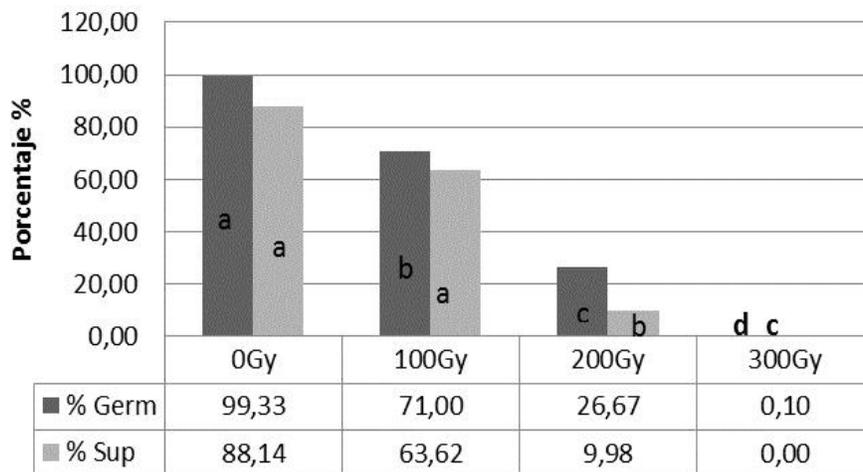
**Tabla 1.** Análisis de varianza de porcentaje de germinación y supervivencia

ANOVA				
Evaluación	F calc.	Pr>F	CV%	S
Germinación	12,86	0,007	5,143	**
Supervivencia	63,36	0,000	11,8	**

\*\*= Altamente significativo; \*= Significativo; NS= No significativo



Los valores medios de germinación y supervivencia disminuyen a medida que se incrementa la dosis (Figura 1). Las semillas irradiadas con la dosis más alta (300Gy) tuvieron los porcentajes más bajos de germinación y no sobrevivieron, varios autores coinciden en que las dosis más altas tienen un efecto radioinhibidor en las semillas, y que las dosis bajas estimulan la germinación [5,6].



**Figura 1.** Valores medios y prueba de Tukey de germinación y supervivencia

En el análisis de varianza para los datos tomados en campo (Tabla 2) se observaron diferencias significativas entre diferentes dosis de radiación.

**Tabla 2.** Análisis de varianza para longitud y peso de espiga; peso y número de granos.

Evaluación	ANOVA			
	F calc.	Pr>F	CV%	S
Longitud de espiga	16,74	0,000	12	**
Peso de espiga	6,437	0,004	18	*
Peso de grano	6,600	0,003	15	*
N° de granos	6,89	0,003	10	*

Los valores medios obtenidos de las evaluaciones de campo (Figura 2) muestran que existió una reducción del desarrollo de las plantas provenientes de semilla irradiada con 200Gy; otros autores reportan que el incremento de las dosis origina una reducción en las características de desarrollo, observándose diferentes grados de radio sensibilidad de las especies Ciftci et al., [7]; Albokari et al., [8]; Scaldaferrero et al., [9], citados por Soraluz [10].

La determinación de la dosis letal media (Figura 3) se realiza con la finalidad de seleccionar la dosis inductora de la mayor cantidad de mutaciones, se tomó en cuenta el porcentaje de germinación, la supervivencia y la longitud de espiga, encontrándose el valor medio de reducción de las características en estudio a los 150 y 140Gy, ambos valores fueron promediados para la cuantificación de la DL50, dando un valor de 145Gy, Pabón [11] determinó el valor de la DL50 en base a la reducción del 50% de la regeneración de las plántulas y a los porcentajes de mortalidad.

Durante las evaluaciones de campo se puso en evidencia la presencia de modificaciones morfológicas en la etapa de formación de la espiga, presentando menor longitud a nivel de las aristas en relación al testigo, así como la ausencia total de las mismas en plantas provenientes de semilla irradiada a 100Gy, las mismas que finalizaron su ciclo con presencia de granos en espiga. Al respecto, Soraluz [10] encontró mutaciones clorofílicas y modificaciones morfológicas en las plantas provenientes de la semilla irradiada a 100 y 150Gy en centeno. El mismo autor menciona que en aspectos morfológicos las variantes observadas se consideran como probables mutaciones, o como mutaciones candidatas, debido a que los cambios o variantes deben heredarse en las siguientes generaciones para ser consideradas mutaciones.

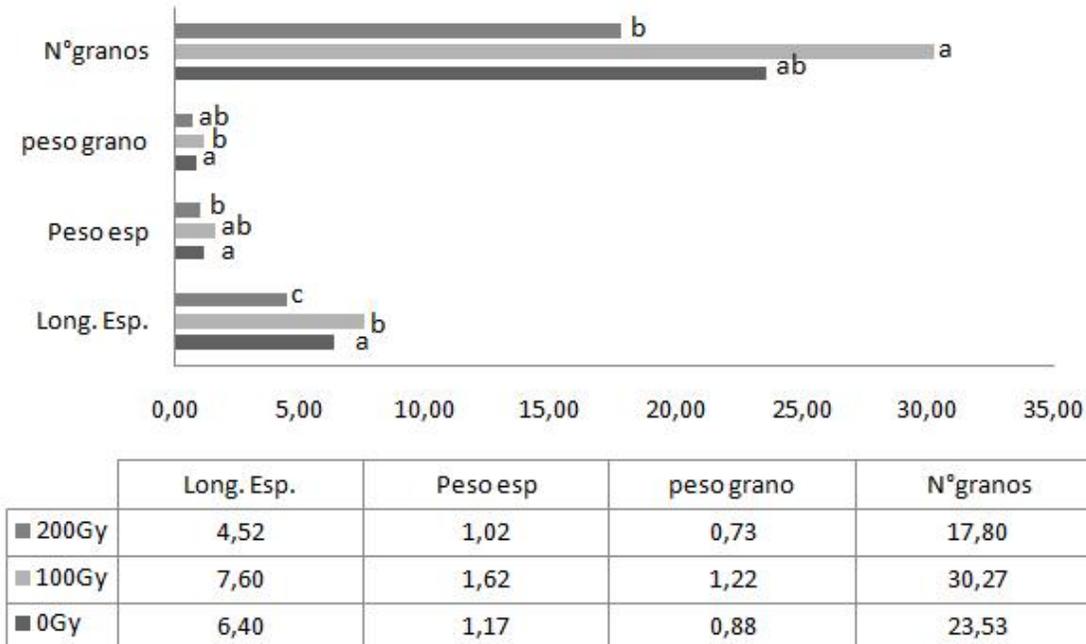


Figura 2. Valores medios y prueba de Tukey de longitud de espiga, peso de espiga, peso de grano, N° de granos.

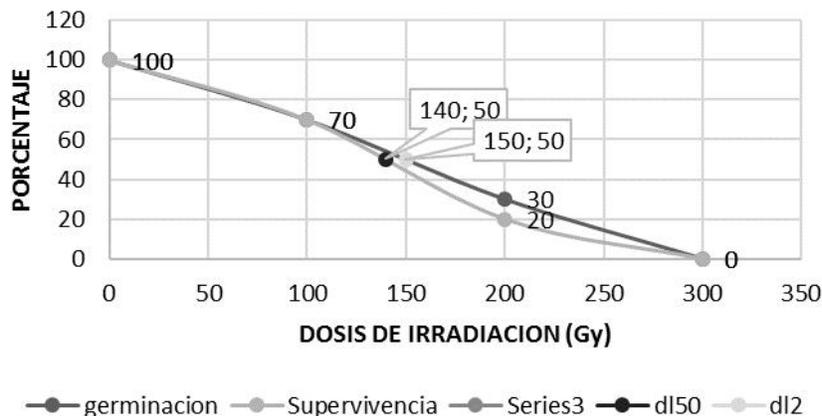


Figura 3. Determinación de la dosis inductora de mutaciones DL50

Tabla 3. Frecuencia de mutaciones en la generación M1

Mutación M1	N° de Plantas Mutantes	Frecuencia de mutación
Mutantes candidatos (sin aristas)	19	0,00259091
Clorofílica	5	0,00068182
Total	23	

En la fotografía 1, se puede observar las posibles mutantes con modificación morfológica de espigas de trigo sin aristas a), además de mutaciones clorofílicas b), las mismas que han sido ampliamente reportadas en estudios de radiomutación inducida, Aldaba F., [12]; Meoño M., [13].

Gustfsson [14] citado por Mamani, [15] menciona que los caracteres modificados en el cultivo de cebada mediante la obtención de mutantes pueden incrementarse o reducirse en lo referente a la longitud de la espiga, así como a la ausencia de barbas (aristas).



Fuente: UIAN-IBTEN

**Fotografía 1.** Modificaciones morfológicas y mutación clorofílica.

### Generación M2.

El análisis de varianza determinó diferencias significativas entre tratamientos de 0, 100 y 200Gy, al igual que en la evaluación de la generación M1, los valores promedio más altos para las variables de estudio fueron de la población de plantas de 100Gy (Tabla 4).

Las semillas de plantas identificadas como posibles mutantes sin aristas mantuvieron su carácter de modificación durante la evaluación de la generación M2, comparándose los valores promedios de crecimiento y de rendimiento con los obtenidos de las plantas de 0, 100 y 200Gy, presentando diferencias significativas para estos valores (Tabla 5).

**Tabla 4.** Análisis de varianza para variables de crecimiento y rendimiento

Evaluación	ANOVA			
	F calc.	Pr>F	CV%	S
% de germinación	8,57	0,017	12	*
Días a la emergencia	0,65	0,570	5,3	NS
Días al espigamiento	11,17	0,023	1,1	*
Altura de planta	8,52	0,036	5,3	*
N° de espigas por planta	11,37	0,022	5,9	*
Longitud de espiga	10,85	0,024	4,9	*
Número de grano por espiga	9,12	0,032	4,6	*
Peso de grano en 1000 semillas	8,65	0,032	3,4	*

**Tabla 5.** Valores medios para variables de crecimiento generación M2.

Dosis de irradiación (Gy)	Germinación (%)	Altura (cm)	Espigas por planta	Longitud espiga (cm)	N° de granos por espiga	Peso 1000 semillas
0	95,60	67,60	7	9,30	49	37,06
100	70,00	75,30	9	10,70	64	40,53
200	57,00	63,30	6	8,90	48	36,43
Trigo sin aristas 100Gy	85,00	73,82	8	10,37	60	40,20



### Cuantificación de nutrientes y minerales

Las modificaciones morfológicas encontradas, evidencian los cambios genéticos que se ocasionan por efecto de la radiación gamma. En tal sentido, estas modificaciones también se manifiestan en el contenido o concentración de nutrientes: minerales, proteínas, etc.

En la tabla 6 se presenta el análisis de % de ceniza y humedad a (0,100 y 200) Gy

**Tabla 6.** Determinación de humedad y cenizas en los granos de trigo, generación M2

MUESTRA	CENIZA %	HUMEDAD %
Trigo To (OGy)	1,60	14,70
Trigo (100 Gy)	1,49	12,03
Trigo (200 Gy)	1,52	11,40
Trigo sin aristas (100 Gy)	1,52	8,00

Las cenizas están formadas principalmente por calcio, magnesio, sodio, potasio, todos procedentes de la parte externa del grano y se observa que el porcentaje de ceniza y humedad disminuye a la dosis de 200 Gy, disminuyendo por lo tanto el contenido de minerales.

El contenido de proteínas y fosforó disminuyó a 200Gy, esto puede atribuirse a la pobre eficiencia de asimilación de carbono y nitrógeno. A dosis más bajas se mantuvo el contenido de los nutrientes como se puede observar en la tabla 7

**Tabla 7.** Determinación de proteínas y fósforo en los granos de trigo, generación M2

MUESTRA	Proteína (%)	Fósforo (mg /100g de masa seca)
Trigo (To Ogy)	12	206,05
Trigo (100 Gy)	12	210,41
Trigo (200 Gy)	11	199,98
Trigo sin aristas (100 Gy)	12	182,50

A la dosis de irradiación de 200 Gy disminuyó el contenido de Ca, Mg y Zn, el contenido de Na y K no presentó cambios significativos como se puede apreciar en la tabla 8. Esto debido a que a dosis altas se inhibe el crecimiento de la planta existiendo una disminución en la absorción de nutrientes y minerales, tomando en consideración la reducción del contenido de ceniza en los granos de trigo.

**Tabla 8.** Contenido de minerales en los granos de trigo, generación M 2

MUESTRA	mg/ 100g de materia seca				
	Na	K	Ca	Mg	Zn
Trigo To (To Gy)	29,03	370,70	55,66	42,13	0,29
Trigo (100 Gy)	29,32	333,91	57,59	41,23	0,33
Trigo (200 Gy)	29,33	354,31	48,81	39,79	0,07
Trigo sin aristas (100 Gy)	31,88	368,82	58,71	38,93	0,38

## EXPERIMENTAL



### *Equipos y reactivos*

La irradiación de las semillas de trigo de la variedad “TEPOCA T-89” se llevó a cabo en el Hospital Santa Bárbara de Sucre con un equipo de Cobaltoterapia “TERADI 2000” La determinación del contenido de nutrientes y minerales de la generación M2 se realizó con las técnicas: Absorción Atómica, Emisión Atómica, Fluorescencia de rayos X, Espectrofotometría UV/vis y Kjendahl.

### *Materia Prima*

Las muestras de trigo provienen del área de Biotecnología vegetal del Centro de Investigaciones y Aplicaciones Nucleares-CIAN, perteneciente al Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear-IBTEN ubicado en el municipio de Viacha, La Paz.

### *Cuantificación de micronutrientes y minerales*

La extracción de micronutrientes se realizó por digestión en medio de ácido nítrico cuantificando Na y K por la técnica de emisión atómica, Ca y Mg por absorción atómica, P por espectrofotómetro UV-Vis y Zn por fluorescencia de rayos X - reflexión Total. La curva de calibración para Na, K, Ca y Mg fue preparada a partir de estándares de 1000 ppm, Zn de 100 ppm y P de 250 ppm. Para el caso de fluorescencia de rayos X se utilizó además un estándar interno: Ga.

### *Análisis estadístico*

El análisis estadístico de todos los datos medidos en condiciones de campo y obtenidos en laboratorio fueron realizados con los programas estadísticos IBM SPSS Statistics22 y QXAS.

## **CONCLUSIONES**

A 200Gy disminuyen los L valores de crecimiento y rendimiento en las evaluaciones de generaciones M1 y M2, in embargo la población de plantas de 100 Gy presentaron mejores características en relación a los otros tratamientos. A dosis de irradiación de 300Gy se inhibió la germinación y supervivencia de las plantas de trigo.

La dosis de irradiación DL<sub>50</sub> para el cultivo de trigo de la variedad “Tépoqa T-89” fue de 145Gy, las modificaciones morfológicas y mutaciones clorofílicas fueron seleccionadas durante la generación M1 en la evaluación de las plantas de 100Gy.

Se determinó que en la generación M2 las plantas de 100Gy y aquellas con modificación morfológica trigo sin arista presentaron las mejores características de crecimiento y rendimiento sin afectar el contenido de nutrientes y minerales. En cambio a 200Gy de irradiación disminuyó el contenido de Ca, Mg, Zn, proteína, humedad y ceniza debido a que a dosis altas se inhibe el crecimiento de la planta existiendo una disminución en la absorción de nutrientes y minerales.

## **RECONOCIMIENTOS**

Los autores agradecen al Lic. Ismael Villca del Hospital Santa Bárbara de Sucre por el apoyo a la investigación del presente trabajo, al Centro de Investigaciones y Aplicaciones Nucleares-CIAN perteneciente al Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear-IBTEN, al Lic. Samuel Fernández, Ing. Jorge Chungara C. y a Eusebio Mita, por su colaboración.

## **REFERENCIAS**

1. L. J. 1930. Some genetic effects of x-rays in plants. *Journ. Hered.* 2, 2-19.
2. Cervantes T. S., 1986. Seminario, uso de la irradiación en Fitomejoramiento, Centro de Genética, colegio de postgraduados. Diciembre 1986, pp. 8.
3. Cruz, E. & García, J. Mejoramiento de pseudo cereales, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares-ININ.



4. FAO, **1992**. "Manual sobre utilización de los cultivos andinos subexplotados en la alimentación", Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe.
5. C. de la Fé, M. Romero, R. Ortiz y M. Ponce. **2000**. Radiosensibilidad de semillas de soya a los rayos gamma 60Co. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Habana-Cuba. *Cultivos Tropicales*, 21 (2), 43-47.
6. Marcu D. et al **2013**. Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*). *Journal of Biological Physics*. 39 (4), 625-634.
7. Ciftci, C.Y., Türkan, A.D., Khawar, K.M., Atak, M. and Ozcan, S. **2006**. Use of gamma rays to induce mutations in four peas (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Turk. J. Biol.*, 30, 29-37.
8. Albokari, M.M.A., Alzahrani, S.M. and Als Salman, A.S. **2012**. Radio sensitivity of some local cultivars of wheat (*Triticum aestivum*) to gamma irradiation. *Bangladesh. J. Bot.* 41 (1), 1-5.
9. Scaldaferrero, M.A., Prina, A.R., Moscone, E.A. and Kwasniewska, J. **2013**. Effects of ionizing radiation on *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (Solanaceae). *Applied Radiation and Isotopes* 79, 103-108.
10. Mamani, N. **2016**. Evaluación de las características morfológicas de trigo (*Triticum Aestivum* L.), en la generación M2 provenientes de semilla irradiada con Rayos Gamma (CO-60). Tesis de Grado para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Carrera de Ingeniería Agronómica, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, pp. 15-16.
11. Pabón, L. **2011**. Inducción de mutaciones mediante radiaciones gamma de (*Passiflora edulis* Sim var. *edulis*), Trabajo de Investigación para optar al título de Magister en Ciencias en Biología – Línea Genética, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Departamento de Biología Posgrado en Biología – Línea Genética Bogotá, D.C. pp. 48-56.
12. Aldaba, F. Identificación de líneas mutantes de cebada (*Hordeum vulgare* L.) con valor agronómico y calidad en una población m8 de la variedad una - la molina 96 desarrollada con radiación gamma. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Agronomía. Tesis de licenciatura, Lima-Perú.
13. Meoño, M. **1975**. Mutaciones clorofílicas inducidas por radiación Gamma en *Phaseolus vulgaris* L. *Rev. Biol. Trop.*, 23 (1), 125-132.
14. Gustafsson, **1964**. El hombre acelera el ritmo de la naturaleza. *Scientific American*. 23.
15. Mamani, N. **2016**. Evaluación de las características morfológicas de trigo (*Triticum Aestivum* L.), en la generación M2 provenientes de semilla irradiada con Rayos Gamma (CO-60). Tesis de Grado para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Carrera de Ingeniería Agronómica, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, pp. 15-16.