



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

**Cambios morfológicos en plantas de
quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* L.
Schott y *Xanthosoma violaceum* L. Schott)
establecidas *in vitro* e invernadero irradiadas
con rayos X**

Autor

Br. Carlos Alfredo García Salazar

Asesores

MSc. Heedy Guadalupe Corea Narváez

MSc. Rosario del Socorro García Loáisiga

PhD. Guillermo del Carmen Reyes Castro

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

Managua, Nicaragua

Julio, 2023

Hoja de aprobación del Comité Evaluador

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

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

Presidente

MSc. Isaías Ezequiel Sánchez
Gómez

Secretario

MSc. Hugo René Rodríguez
González

Vocal

Ing. Harlem Tania Ríos Peralta

Lugar y Fecha: _____

DEDICATORIA

Dios gracias por ayudarme a escalar esta montaña, sin importar el tiempo ni las circunstancias en las que me encontraba; por ser la luz en mis tinieblas y consuelo en mis tristezas.

A mi madre Juana Salazar Andino (Q.E.P.D) por ser una mujer fuerte durante mi preparación bajo sus dificultades y sobre todo al final de sus días, te agradezco por ayudarme a salir adelante; gracias por sacar fuerzas donde ya no las tenías, fuiste y siempre serás mi amor eterno, aunque ya no estés físicamente a mi lado siempre te llevo en mi corazón.

Secundino García Rocha gracias por sus consejos que me ayudaron de mucho en este largo camino, por decirme que todos mis sueños se los pusiera en las manos de Dios, te dedico mis triunfos por ser un padre luchador.

A mi novia Ing. Francis Karina Arévalo por darme su amor incondicional, por ser mi confidente en mis tristezas y alegrías gracias por estar a mi lado cuando más lo necesitaba.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ayudarme a ganar las batallas que se atravesaban en el camino.

A mi madre Juana Salazar Andino (Q.E.P.D) por confiar en mi durante sus angustias, por decirme anda a la universidad yo estaré bien.

A mis asesores MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez, MSc. Rosario del Socorro García Loáisiga y PhD. Guillermo del Carmen Reyes Castro, por llevarme hasta el final de este largo camino, por enseñarme cada uno de sus conocimientos son un ejemplo a seguir.

A mi hermano Jorge García Salazar por su apoyo durante esta formación profesional que tuve, le agradezco por estar a mi lado cuando lo necesitaba.

Ing. Francis Arévalo Martínez y su mamá Violeta Martínez por abrir las puertas de su corazón y casa para regalarme apoyo y amor en mi vida. Les agradezco por ser parte fundamental en mi vida y a Dios por ponerlas en mi camino.

A mi profesora MSc. Heeidy Guadalupe Corea Narváez, gracias por su apoyo emocional y económico cuando lo necesitaba; le agradezco por estar pendiente de mi cuando todo mi mundo estaba oscuro por esas palabras de aliento, por tantas cosas que hizo por mí, por tal razón le pido a Dios que la bendiga siempre.

A mis amigos Kevin Calixto, Kevin H. Pineda, Santos Álvarez y otros compañeros más que me conocen, profesores y trabajadores que son parte de la universidad y otros que ya no son parte de la UNA y brindaron su apoyo.

A los familiares que me brindaron su apoyo, motivación y consejos que me ayudaron de mucho y los seguiré guardando para toda la vida.

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I INTRODUCCIÓN	1
II OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III MARCO DE REFERENCIA	4
3.1 <i>Xanthosoma</i> spp.	4
3.2 Características del quequisque Blanco	4
3.3 Características del quequisque Lila	4
3.5 Mutación	5
3.6 Mejora por mutaciones	5
3.7 Tipos de inducción de mutaciones	5
3.8 Radiación	6
3.9 Rayos x	6
3.10 Dosis de irradiación	6
3.11 Irradiación en masa	6
3.12 Micropropagación <i>in vitro</i> de plantas inducidas a mutaciones	7
IV MATERIALES Y MÉTODOS	8
4.1 Ubicación del estudio	8
4.2 Material vegetal	8
4.3 Preparación del material vegetal para la irradiación en masa	8
4.4 Dosis de irradiación con rayos X utilizadas en el estudio	8
4.5 Etapa de multiplicación <i>in vitro</i>	9
4.6 Etapa de enraizamiento <i>in vitro</i>	9
4.7 Etapa de aclimatización en invernadero	9

4.8	Diseño experimental	10
4.9	VARIABLES EVALUADAS	10
4.9.1	VARIABLES EN ETAPA <i>in vitro</i>	10
4.9.2	VARIABLES EVALUADAS EN ETAPA DE INVERNADERO	10
4.10	ANÁLISIS DE DATOS	12
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
5.1	Número líneas en etapa <i>in vitro</i>	13
5.2	Promedio de plantas por líneas en etapa <i>in vitro</i>	14
5.3	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XV-5	15
5.4	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XV-7	16
5.5	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XV-9	17
5.6	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XS-7	18
5.7	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XS-9	20
5.8	Tasa de multiplicación de plantas <i>in vitro</i> de XS-11	21
5.9	Características morfológicas de plantas de quequisque lila <i>in vitro</i> de la línea XV7-11 irradiada con 7 Gy de rayos X	23
5.10	Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila irradiadas con rayos X reproducidas <i>in vitro</i> y aclimatadas en el invernadero	24
5.11	Forma de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X reproducidas <i>in vitro</i> y aclimatadas en el invernadero	27
5.12	Disponibilidad de agua y altas temperaturas sobre variables morfológicas evaluadas en invernadero	30
VI	CONCLUSIONES	35
VII	RECOMENDACIONES	36
XIII	LITERATURA CITADA	37
IX	ANEXOS	41

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Dosis de irradiación con rayos X utilizadas en plantas de quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L. Schott) y quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i> L. Schott) irradiadas con rayos X, establecidas en el laboratorio de cultivos de tejidos de la UNA	9
2. Variables evaluadas en la etapa <i>in vitro</i> en plantas de quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L. Schott) y quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i> L. Schott) irradiadas con rayos X, establecidas en el laboratorio de cultivos de tejidos de la UNA	10
3. Forma de la hoja, lóbulos, ápices y otras características de las hojas de quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L. Schott) y quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i> L. Schott) de plantas irradiadas con rayos X evaluadas en la etapa de invernadero a los dos meses después de aclimatadas	11
4. Variables morfológicas evaluadas en la etapa de invernadero a los 12 meses después de aclimatadas en plantas de quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L. Schott) y quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i> L. Schott) irradiadas con rayos X, establecidas en el año 2021	12
5. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de las líneas de quequisque Lila y Blanco irradiadas con rayos X y trasplantadas al invernadero	31
6. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis, medias y categorías estadísticas de altura de plantas (cm), número de hojas, área foliar (cm ²) y diámetro de pseudotallo de quequisque Lila con las dosis de irradiación 5, 7, y 9 Gy evaluados a los 12 meses después de la aclimatación	32
7. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis, medias y categorías estadísticas de altura de plantas (cm), número de hojas, área foliar (cm ²) y diámetro de pseudotallo de quequisque Blanco con las dosis de irradiación 7, 9 y 11 Gy evaluados a los 12 meses después de la aclimatación	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Hojas de plantas de quequisque testigos utilizadas como referencia para comparar con plantas irradiadas con rayos X. a. quequisque Lila (<i>Xanthosoma violaceum</i>) y b. quequisque Blanco (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>).	11
2. Número de líneas en las etapas de multiplicación M1V2 – M1V7 de: a. quequisque Blanco irradiado con 7, 9 y 11 Gy (XS7, XS9 y XS11) de rayos X y b. quequisque Lila irradiado con 5, 7 y 9 Gy (XV5, XV7 y XV9) de rayos X.	13
3. Promedio de plantas por líneas en las etapas de multiplicación M1V2 - M1V7 en: a. quequisque Blanco irradiado con 7, 9 y 11 Gy (XS7, XS9 y XS11) de rayos X y b. quequisque Lila irradiado con 5, 7 y 9 Gy (XV5, XV7, y XV9) de rayos X.	14
4. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 5 Gy (XV5) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	15
5. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 7 Gy (XV7) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	17
6. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 9 Gy (XV9) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	18
7. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 7 Gy (XS7) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	19
8. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 9 Gy (XS9) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	21
9. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 11 Gy (XS11) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M1V3, b: M1V4, c: M1V5, d: M1V6, e: M1V7.	22
10. Plantas de quequisque Lila de la línea XV7-11 irradiada con rayos X en etapa de multiplicación <i>in vitro</i> . a. plantas con hojas alargadas y sin lóbulos b. plantas con forma de macolla c. plantas con hojas redondeadas.	23

11. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja de la línea XV5-10; b. hoja de la línea XV5-68; c. hoja redondeada crasa, con lóbulos pequeños y asimétricos con ceno foliar descubierto de la línea XV7-6; d. hoja sagitada asimétrica discolora y lóbulos diferentes y con una mancha en la cara izquierda de la línea XV7-6. 24
12. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hojas asimétricas y borde de la lámina encrespados discolora de la línea XV7-7; b. hoja asimétrica discolora con manchas en una cara con la nervadura principal brillante, lóbulos diferentes uno redondeado y la otra con punta de la línea XV7-8; c. hoja asimétrica deforme y nervaduras de color verde claro grisáceo con una cara de la lámina atrofiada de la línea XV7-8. 25
13. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* de la línea XV7-11 irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja lanceolada; b. y c. hoja subulada. 25
14. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja cordiforme asimétrica con ápice apiculado y ceno foliar no descubierto de la línea XV7-12; b. hoja cordiforme redondeada con ápice redondeado y ceno foliar descubierto de la línea XV7-12; c. hojas color verde oscuro de la línea XV7-101; d. hojas color verde claro con mancha cerca del ápice de la línea XV7-101. 26
15. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja discoloras, lámina ondulada, lóbulos divergentes y ceno foliar cubierto de la línea XV9-25; b. hoja oblonga con la base acorazonada y lóbulos asimétricos con punta de la línea XV9-44; c. hoja sagitada asimétrica distorsionada, discolora con borde encrespados ondulados y con una mancha blanca en el borde derecho de la línea XV9-45; d. hoja sagitada asimétrica, crasa, lámina encrespada y ondulada, con manchas amarillentas en la parte apical de la lámina de la línea XV9-46. 27
16. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. y b. hoja lanceolada con base acorazonada de la línea XS7-17; c. hoja falcada con base acorazonada de la línea XS9-8; d. hoja de la línea XS9-8; d. hoja color amarillento como virosis y nervadura color verde oscuro de la línea XS9-14. 28

17. Formas de la hoja de plantas quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X de evaluadas en invernadero: a. y b. hoja sagitada asimétrica con ápice agudo de la línea XS9-19 c. hoja lanceolada con ápice agudo de la línea XS9-19; d. hoja lanceolada con ápice apiculado de la línea XS9-19. 28
18. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X de la línea XS9-25 evaluadas en invernadero: a. hoja asimétrica discolora con venas y vénulas resaltadas de color verde oscuro; b. hoja lanceolada con base acorazonada y ápice cuspidado; c. hoja asimétrica con lóbulos traslapados; c. hoja con nervadura blanquecina y manchas en la lámina. 29
19. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja de la línea XS11-4; b. hoja cordiforme asimétrica de la línea XS11-7; c. hoja lanceolada con base acorazonada y mancha en lámina izquierda de la línea XS11-7; d. hojas lanceoladas con base acorazonada y mancha en las láminas izquierda de la línea XS11-7. 29
20. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja sagitada con base acorazonada y ápice cirroso de la línea XS11-7; b. hoja falcada asimétrica con ápice agudo de la línea XS11-7; c. hoja lanceolada con base acorazonada y ápice agudo de la línea XS11-7; d. hojas de la línea XS11-12. 30
-

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Lila <i>in vitro</i> XV5 irradiadas con rayos X	41
2.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Lila <i>in vitro</i> XV7 irradiadas con rayos X	42
3.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Lila <i>in vitro</i> XV9 irradiadas con rayos X	43
4.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Blanco <i>in vitro</i> de XS7 irradiadas con rayos X	44
5.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Blanco <i>in vitro</i> XS9 irradiadas con rayos X	45
6.	Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa $M_1V_3 - M_1V_7$ de plantas de quequisque Blanco <i>in vitro</i> XS11 irradiadas con rayos X	45

RESUMEN

El quequisque es originario de América tropical y subtropical, en Nicaragua se cultiva en zonas húmedas, es un alimento básico para muchas personas, es afectado por la enfermedad mal seco (*Pythium myriotylum* Dreschler) reduciendo el 90% de rendimiento, no existen genotipos resistentes. Plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco fueron irradiadas con rayos X y propagadas en el laboratorio Plant Breeding and Genetics en Seibersdorf, Austria, y en el Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad Nacional Agraria, Nicaragua. A las plantas *in vitro* irradiadas con dosis 7, 9 y 11 Gy quequisque Blanco y 5, 7 y 9 Gy quequisque Lila, se evaluó número de líneas, promedio de plantas por línea y tasa de multiplicación. A las plantas establecidas en invernadero se les evaluó a los dos meses después de la siembra (mds) la forma de la hoja, a plantas establecidas en el invernadero en 2021 a los 12 mds se evaluó el porcentaje de sobrevivencia y variables morfológicas. En cada multiplicación *in vitro*, el número de líneas de quequisque Lila y Blanco se redujo y el promedio de plantas por línea aumentó. La tasa de multiplicación de las líneas fue variable, predominando uno a dos brotes producidos por planta en cada línea. Las líneas XV5-10, XV5-68, XV7-6, XV7-7, XV7-8, XV7-11, XV7-12, XV7-101, XV9-25, XV9-44, XV9-45, XV9-46, XS7-17, XS9-8, XS9-14, XS9-19, XS9-25, XS11-4, XS11-7 y XS11-12 registraron variaciones en las formas de las hojas (base, ápice, lóbulos, bordes, nervadura, tamaño y coloración de la lámina). El 28 y 48 % de las líneas de quequisque Lila y Blanco respectivamente sobrevivieron a las condiciones de baja humedad y altas temperaturas del invernadero, las líneas sobrevivientes en quequisque Lila fueron: XV5-3, XV5-8, XV5-9, XV5-10, XV5-110, XV5-111, XV7-7, XV9-25, XV9-39, XV9-44, XV9-45, XV9-46 y XV48, en quequisque Blanco fueron: XS7-1, XS7-17, XS9-13, XS9-14, XS9-19, XS9-25, XS11-7, XS11-12, XS11-16, XS11-26, XS11-28, XS11-31 y XS11-33. La línea XV5-111 fue de mayor altura (30.50 cm), la línea XV7-7 registró mayor área foliar (42.92 cm²), y la línea XV9-45 registró el mayor diámetro de pseudotallo (2.10 cm), no hubo diferencias en el número de hojas.

Palabras clave: Tasa de multiplicación, mutaciones, mejora mutacional

ABSTRACT

Cocoyam is native to tropical and subtropical America, in Nicaragua it is grown in humid areas, it is a staple food for many people, it is affected by the root rot disease (*Pythium myriotylum* Dreschler) reducing 90% of yield, there are no resistant genotypes. *In vitro* plants of Lila and Blanco cocoyam were X rays irradiated and propagated at the Plant Breeding and Genetics laboratory in Seibersdorf, Austria, and at the Plant Tissue Culture Laboratory of the Universidad Nacional Agraria, Nicaragua. *In vitro* plants irradiated with doses of 7, 9 and 11 Gy Blanco cocoyam and 5, 7 and 9 Gy Lila cocoyam, the number of lines, average number of plants per line and multiplication rate were evaluated. the shape leaf was evaluated to the plants established at the greenhouse two months after sowing (mds), to plants established in the greenhouse in 2021 at 12 mds the percentage survival and morphological variables were evaluated. In each *in vitro* multiplication stage, the number lines of Lila and Blanco cocoyam decreased and the average number of plants per line increased. The multiplication rate of the lines was variable, prevailing one to two shoots produced per plant in each line. The lines XV5-10, XV5-68, XV7-6, XV7-7, XV7-8, XV7-11, XV7-12, XV7-101, XV9-25, XV9-44, XV9-45, XV9-46, XS7-17, XS9-8, XS9-14, XS9-19, XS9-25, XS11-4, XS11-7 and XS11-12 recorded variations in leaf shapes (base, apex, lobes, edges, venation, blade size and color). 28 and 48 % of the Lila and Blanco cocoyam lines respectively survived the low humidity and high temperatures conditions of the greenhouse, the surviving lines in Lila cocoyam were: XV5-3, XV5-8, XV5-9, XV5-10, XV5-110, XV5-111, XV7-7, XV9-25, XV9-39, XV9-44, XV9-45, XV9-46 and XV48, in white cakes were: XS7-1, XS7-17, XS9- 13, XS9-14, XS9-19, XS9-25, XS11-7, XS11-12, XS11-16, XS11-26, XS11-28, XS11-31 and XS11-33. The XV5-111 line was taller (30.50 cm), the XV7-7 line recorded the highest leaf area (42.92 cm²), and the XV9-45 line recorded the largest pseudostem diameter (2.10 cm), there were no differences in the number of sheets.

Keywords: multiplication rate, mutations, plant mutation breeding.

I. INTRODUCCIÓN

“El quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* (L.) Schott), son originarios de América tropical y subtropical.” (Reyes *et al.*, 2013, p.1). Mairena e Ibarra (2005) mencionan que el cultivo de quequisque en Nicaragua se localiza principalmente en las zonas húmedas: RACCS y Río San Juan, al norte del país Waslala, Río Blanco y en el pacífico, particularmente en el departamento de Masaya. (p. 10 y11).

El quequisque es un cultivo alimenticio básico importante para muchas personas (Owusu-Darko *et al.*, 2014), es afectado por la enfermedad mal seco causada por *Pythium myriotylum* Dreschler con reducciones del 90% de rendimiento (Nzietchueng, 1983). Según Steiner (1981) el mal seco detiene el desarrollo de la planta desde el segundo mes en adelante, la pudrición de la raíz es rápida, de modo que las plantas producen de tres o cuatro hojas por el sistema radicular ineficiente, por ello no producen cormelos, y un porcentaje considerable de plantas muere después de 4 meses.

A pesar de la importancia que tiene el quequisque para la dieta de los nicaragüenses no existen genotipos resistentes al mal seco o a condiciones ambientales adversas, por lo que es necesario realizar trabajos de mejora genética en el cultivo.

De acuerdo a Guerrero y Florián (2008) los métodos de mejora convencional se ven limitados por la poca floración natural, el tiempo en que ésta aparece y las ocasiones limitadas que se producen semillas. Según Reyes *et al.* (2013) el quequisque difícilmente puede propagarse por medio de semillas botánicas, la propagación es obligatoriamente por medios vegetativos, esto garantiza características genéticas de la planta madre, sin embargo, a través de esta forma se diseminan plagas y enfermedades que reducen significativamente los rendimientos (p.6)

Algunos cultivos que se reproducen vegetativamente, sobre todo los que son estériles no producen semilla, son difícil de mejorar a partir de cruzamiento por lo que se necesita crear métodos para inducir mutaciones (Novak y Brunner, 1992). La aplicación de técnicas de mejoramiento de cultivos por inducción de mutación, pueda que sea usado en una diversidad de cultivos que no se propaga a través de semillas, estos cultivos se conocen como de propagación vegetativa, por lo que el método de reproducción convencional es difícil e imposibles de implementar, es una herramienta útil para la mejora de muchas de estas especies, permitirá descubrir el potencial productivo de las plantas o/y desarrollar variedades de cultivos resistentes

a los factores externos adversos, a plantas que se multiplican *in vitro* junto con la técnica de propagación invernadero. (Sarsu *et al.*, 2021a; Khalil, 2018).

Sarsu *et al.* (2018) indican que el proceso de mejora por mutaciones generalmente comienza con la propagación *in vitro* del material que se quiere mejorar, mediante meristemos apicales de los brotes, cormos o suspensiones de células embrionarias, y se irradian para inducir mutaciones, posteriormente se evalúan las tasas de supervivencias y multiplicación para obtener las dosis óptimas que dependerá de los parámetros a evaluar. Este proceso se realizó en quequisque a través del proyecto de la Universidad Nacional Agraria (UNA) Ampliación de la variabilidad genética de propagación vegetativa financiada por la Organización de Energía Atómica, y de los primeros resultados, Rayo (2021) obtuvo las dosis de irradiación con rayos X en quequisque Blanco y Lila.

A nivel nacional no existen otros estudios en el cultivo de quequisque de inducción a mutaciones utilizando rayos X, y en otros países (Blay *et al.*, 2004 y Saborío *et al.*, 2004) utilizaron irradiaciones en *X. sagittifolium* para obtener mutantes resistentes al mal seco sin éxito.

Según Jankowicz-Cieslak *et al.* (2017) en el mejoramiento por mutaciones de plantas es imperativo generar y evaluar grandes poblaciones de mutantes para aumentar la posibilidad de identificar una variante deseable.

En este estudio se irradiaron en masa 500 plantas *in vitro* por cada dosis seleccionada por Rayo (2021) en quequisque Lila y Blanco y se multiplicaron en siete subcultivos para evaluar los cambios morfológicos y variaciones genéticas observadas en condiciones *in vitro* e invernadero.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar cambios morfológicos *in vitro* e invernadero en plantas de quequisque (*Xanthosoma sagittifolium* y *Xanthosoma violaceum*) irradiadas con rayos X.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar las tasas de multiplicación *in vitro* de quequisque Blanco y Lila irradiado con rayos X.
- Describir el efecto de la irradiación de rayos X en la morfología de plantas *in vitro* de quequisque Blanco y Lila establecidas *in vitro* e invernadero.
- Evaluar la sobrevivencia de plantas *in vitro* de quequisque Blanco y Lila irradiadas con rayos X establecidas en el invernadero en el año 2021 y su relación con la disponibilidad de agua y altas temperaturas

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 *Xanthosoma* spp.

El quequisque “(*Xanthosoma* spp.) pertenece a la familia Araceae, es un cultivo herbáceo monocotiledónea” (Giacometti *et al*, 1994). “Es originario de América tropical y subtropical, Puerto Rico posee la mayor variabilidad de cultivares de los países del Caribe y Centroamérica” (Reyes *et al.*, 2013, p.1). De acuerdo con León (2000) “se conocen unos setenta clones de *Xanthosoma* cultivados por los tallos subterráneos que suplen un alimento energético más rico en proteínas, vitaminas y minerales en comparación a la papa y otros tubérculos” (p.399).

3.2 Características del quequisque Blanco

De acuerdo a Bermejo y León (1994) es una herbácea perenne, tiene un cormo o tallo subterráneo principal en forma de un rizoma a partir de la cual desarrolla brotes, o cormelos. Hojas sagitadas grandes también brotan del tallo principal y erecto con pecíolos largos y acanalados. Las inflorescencias brotan entre las hojas en un espádice, con una espata blanca de 12 a 15 cm que se cierra en su base en forma de cámara esférica y se abre en la parte superior; el espádice es cilíndrico, ligeramente más largo que la espata, con flores femeninas en la parte inferior, flores masculinas en la porción superior sus flores son estériles en la porción media y producen pocas semillas. El ciclo de crecimiento dura de nueve a 11 meses: durante los primeros seis meses los bulbos, el follaje permanece estable y, cuando comienza a secarse, las plantas están listas para que los cormelos sean cosechados. (p.253)

3.3 Características del quequisque Lila

Según Soto (1983):

Planta de 150-180 cm de altura, peciolo ceroso en el dorso, con costados purpura, hojas ovaladas, sagitadas, de 14-50 cm de longitud y de 15-40 cm de ancho, color verde oscuro en el as de la hoja y verde pálido o purpura en el envés, lóbulos basales de la hoja casi triangulares, las hojas jóvenes tienen una pelusilla azulada al inicio y luego se torna verde, la espata es de color verde claro o violeta en el exterior y crema en el interior, posee un cormo principal muy grande y numerosos cormos laterales de forma más simétrica, las yemas apicales son de color rojo purpura, la parte interna del cormo y los cormelos son violeta, con estrías rosadas. (p.5-6)

3.5 Mutación

De acuerdo a Oliva *et al* (2004):

La mutación es cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN, pueden ser causadas por acción de agentes mutágenos y por las radiaciones ionizantes como la radiación ultravioleta, la cual es un componente intrínseco de la luz solar, provoca la aparición de dímeros de timina, los cuales a su vez originan cambios en la estructura tridimensional del ADN y paralizan el proceso de replicación. Las radiaciones ionizantes como los rayos X y rayos gamma pueden ejercer su efecto directamente sobre las bases (rotura y fragmentación del ADN) también pueden generar a través del agua radicales libres responsables del daño celular. (p.51-54)

3.6 Mejora por mutaciones

De acuerdo a Spencer-Lopes *et al* (2018a) la mutación es un proceso mediante el cual se produce un cambio heredable en la composición genética de un organismo, lo cual genera la aparición de características nuevas que pueden ser transmitidas de generación en generación, impulsando así el proceso evolutivo. En la naturaleza, las mutaciones pueden surgir debido a errores durante la replicación del ADN, el material genético responsable de transmitir la información hereditaria. Además, también es posible que este material genético se modifique como resultado de la exposición a radiaciones presentes en el entorno natural, de esta manera se conoce como mutante espontáneo. Tras los importantes hallazgos científicos de los rayos X, la radiactividad y los elementos radiactivos, condujeron directamente a la rápida y generalizada adopción de las mutaciones inducidas como una herramienta para mejorar los cultivos. (p.1)

3.7 Tipos de inducción de mutaciones

Mutagénesis física y química

De acuerdo a Spencer-Lopes *et al.* (2021).

Los mutágenos físicos comprenden todas las radiaciones nucleares y fuentes de radioactividad, incluida la luz ultravioleta (una radiación no ionizante), varios tipos de radiaciones ionizantes, como, rayos X y gamma, partículas alfa y beta, protones y neutrones y varios de estos están disponibles para la inducción de mutaciones en plantas.

Según Ingelbrecht *et al.*, 2021:

Los mutágenos químicos comúnmente utilizados en plantas con especial atención, los principales mutágenos químicos en uso para la mejora práctica de cultivos o Mutagénesis experimental de plantas son: etilmetanosulfonato (EMS) para mutagénesis de ápices de brotes, azida de sodio (SA) y N-metil N-nitrosourea (MNU) para la mutagénesis de semillas (pp.5 y 42).

3.8 Radiación

Las radiaciones como las radiaciones nucleares y fuentes de radioactividad, incluida la luz ultravioleta que es una radiación no ionizante y las radiaciones ionizantes están disponibles para la inducción de mutaciones de plantas cada uno tiene la característica común de liberar energía ionizante (rayos X y gamma, partículas alfa y beta, protones y neutrones.), existen varias diferencias entre las radiaciones ionizantes con respecto a la energía desplegada, la capacidad de penetración y el nivel de peligro involucrado para los operadores (Spencer-Lopes *et al.*, 2018b, p.5)

3.9 Rayos x

“Los rayos X se originan en electrones y no en energía nuclear, son radiaciones emitidas, se basa en las longitudes de onda: 0,001-10 nm para rayo gamma y 2000-3000 nm para luz UV” (Spencer-Lopes *et al.*, 2021, p.5).

3.10 Dosis de irradiación

Para tener un mejoramiento exitoso por mutación, se debe determinar de la dosis optima de mutágenos, ya que una dosis alta causa mutaciones drásticas y puede causar daño en el meristemo apical, por lo que se prefieren dosis bajas, realizar ensayos preliminares para determinar la dosis apropiada en el material vegetal es lo recomendable. (Sarsu *et al.*, 2021b, p.135)

3.11 Irradiación en masa

El tratamiento masal, que es la preparación de múltiples explantes suficientemente grande cultivados *in vitro*, la irradiación se puede realizar en aproximadamente en 2000 ápices de brotes según los recursos disponibles, de tamaño uniforme y de aspecto saludables, para inducir a mutación, ya sea con rayos gamma, rayos X, neutrones, partículas alfas, partículas beta, etc. Las dosis optimas dependerán de la variedad, genotipo, condiciones del cultivo de tejido y cuidados específicos del laboratorio (Mukhtar *et al.*, 2021; Ingelbrecht *et al.*, 2021; Sarsu *et al.*, 2018)

3.12 Micropropagación *in vitro* de plantas inducidas a mutaciones

Después del tratamiento, se trasladan de manera individual a medios frescos y se colocan en entornos controlados normales del cultivo. Después de aproximadamente 4 semanas, se registra el porcentaje de supervivencia en la generación M_1V_1 . Cada brote se separa y se transfiere a un medio de propagación para generar el ciclo M_1V_2 . Este proceso se repite en ciclos consecutivos hasta llegar a la generación M_1V_5 o más etapas, con el objetivo de disociar quimeras. Posteriormente, estos brotes pueden ser trasladados a un medio de enraizamiento para generar plántulas completas; estas plantas mutadas se transfieren a un invernadero, donde se mantienen a temperaturas normales durante aproximadamente una semana para el endurecimiento de la planta, con el fin de mejorar el proceso de aclimatación, mientras se monitorea cuidadosamente. (Sarsu *et al.* 2018)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del estudio

La multiplicación de las plantas *in vitro* y caracterización de las plantas en cada multiplicación se realizó en el Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicado en área del Programa de Recursos Genéticos (REGEN), en las coordenadas geográficas 12°08'58"53.48 de latitud norte y 86°09'36"90.36 longitud oeste.

La irradiación en masa de las plantas *in vitro* se realizó en el laboratorio Plant Breeding and Genetics en Seibersdorf, Austria en las coordenadas 47°57'47"32.31 latitud norte y 16°30'40"35.68 longitud este.

El establecimiento en invernadero y caracterización de las líneas mutantes de quequisque se realizó en los invernaderos ubicados en el REGEN del proyecto Ampliación de la variabilidad genética de cultivos de propagación vegetativa.

4.2 Material vegetal

El material vegetal utilizado para el estudio, fueron plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco establecidas en el laboratorio de cultivo de tejidos de la UNA. Este material fue colectado en el municipio de Nueva Guinea, Región Autónoma de la Costa Caribe Sur de Nicaragua.

4.3 Preparación del material vegetal para la irradiación en masa

Las plantas *in vitro* con buen desarrollo y sin contaminación se redujeron a un tamaño aproximado a 1.5 cm y fueron colocadas sobre un filtro de papel, en un plato Petri descartable y se le agregó 2 ml de H₂O destilada estéril para su posterior irradiación. En cada plato Petri se colocaron 20 explantes.

Los explantes preparados se irradiaron en el equipo de rayos X autoprotegido RS-2400.

4.4 Dosis de irradiación con rayos X utilizadas en el estudio

Se irradiaron 500 plantas *in vitro* por cada dosis de irradiación, con las dosis anteriormente definidas en la prueba de radiosensibilidad realizada por Rayo (2021). Las dosis están descritas en el cuadro 1.

Cuadro 1 Dosis de irradiación con rayos X utilizadas en plantas de quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L. Schott) irradiadas con rayos X, establecidas en el laboratorio de cultivos de tejidos de la UNA

Nombre común	Nombre científico	Siglas	Dosis de irradiación (Gy)	Abreviaturas
Quequisque Blanco	<i>X. sagittifolium</i>	XS	7, 9 y 11	XS7, XS9 y XS11
Quequisque Lila	<i>X. violaceum</i>	XV	5, 7 y 9	XV5, XV7 y XV9

4.5 Etapa de multiplicación *in vitro*

La nomenclatura utilizada para las generaciones o multiplicaciones realizadas a las plantas mutadas corresponde a M_1V_1 donde M indica la cantidad de mutagénesis realizada y V las generaciones vegetativas del material (Jankowicz-Cieslak *et al.*, 2017).

Se realizaron siete multiplicaciones ($M_1V_1 - M_1V_7$) para disgregar las quimeras y las plantas fueron etiquetadas por línea. Se utilizó el medio Murashige y Skoog (MS) + 2.5 mg l⁻¹ de 6-Benciloaminopurina (6-BAP) para esta etapa.

4.6 Etapa de enraizamiento *in vitro*

En esta etapa las plantas que estaban en la etapa M_1V_7 y tenían mejor desarrollo fueron colocadas en el medio MS + 1 mg l⁻¹ Ácido indol acético (AIA) para promover la producción de raíces

4.7 Etapa de aclimatización en invernadero

Las plantas *in vitro* de quequisque enraizadas y con una altura de 8 cm aproximadamente, fueron sembradas en el invernadero con dimensiones de 10 m x 20 m forrado con malla anti áfidos 50 mesh perimetral y como cobertura de techo plástico Ultra Violeta. Se utilizaron bolsas de polietileno y un sustrato de Kekkila más piedra poma de 4 mm de grosor en proporciones de 2 de Kekkila y 1 de piedra poma, esto para tener una mejor aireación, drenaje del agua y un buen desarrollo de las raíces, las bolsas fueron puestas en mesas metálicas y se les aplicó riego en cuatro tiempos, el primer riego fue con microaspersores y los otros fueron con atomizadores.

4.8 Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completo al azar (DCA). Se evaluaron individualmente cada planta (línea) por dosis en la etapa *in vitro*.

4.9 Variables evaluadas

Las variables evaluadas en las etapas *in vitro* e invernadero fueron:

4.9.1 Variables en etapa *in vitro*

En el quequisque Lila se realizaron multiplicaciones (M_1V_x) a los 9, 18, 21, 26, 31 y 34 meses después de la irradiación (mdi). En el quequisque Blanco se realizaron a los 12, 17.5, 21.5, 26, 29 y 35 mdi para disgregar los efectos de la quimera y se evaluaron las variables descritas en el Cuadro 1.

Cuadro 2. Variables evaluadas en la etapa *in vitro* en plantas de quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L. Schott) irradiadas con rayos X, establecidas en el laboratorio de cultivos de tejidos de la UNA

Nº	Variable	Descripción
1.	Número de líneas	Se contabilizó el número de líneas existente en cada cultivar por dosis de irradiación
2.	Promedio de plantas por línea	Se contabilizó y se promedió el número de plantas existente en cada línea por cultivar por dosis de irradiación
3.	Tasa de multiplicación	Se evaluaron cuantas plantas se desarrollaron de una planta después de un subcultivo y se calculó la tasa de multiplicación.

Se describieron algunas características morfológicas observadas en plantas *in vitro* de quequisque Blanco y Lila que se presentaron en las etapas de multiplicación *in vitro*.

4.9.2 Variables evaluadas en etapa de invernadero

Se evaluó la forma de la hoja en plantas aclimatadas en invernadero establecidas en el año 2021 a los 12 meses después de aclimatadas (mda) y a las plantas establecidas en el 2022 a los dos mda; se compararon con las hojas de 10 plantas testigos de quequisque Lila y Blanco según el caso (Cuadro 2 y Figura 1).

Cuadro 3. Forma de la hoja, lóbulos, ápices y otras características de las hojas de quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L. Schott) de plantas irradiadas con rayos X evaluadas en la etapa de invernadero a los dos meses después de aclimatadas

Formas de la hoja	Lóbulos	Ápice	Otras características
Oblonga con base acorazonada	Sin lóbulos	Agudo	Crasa
Redondeada	Diferentes	Apiculado	Con manchas
Sagitada	Asimétricos	Redondeado	Ceno foliar cubierto o descubierto
Lanceolada	Traslapados	Truncado	Nervadura hifódromas o resaltadas
Subulada	Redondeados	Acuminatado	Bordes encrespados, revolutos u ondulados
Cordiforme	Pequeños	cirroso	Lámina ondulada, encrespada, atrofiada o asimétrica
Falcada	Grandes		
Reniforme			

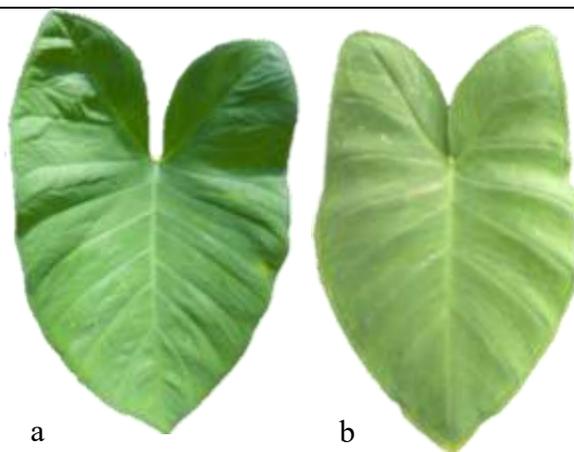


Figura 1. Hojas de plantas de quequisque testigos utilizadas como referencia para comparar con plantas irradiadas con rayos X. a. quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum*) y b. quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium*).

En 2021 se sembraron en el invernadero 27 líneas de quequisque Blanco y 62 líneas de quequisque Lila bajo condiciones de temperatura de 25°C a 55°C y sin riego durante el primer mes de establecimiento y luego tuvieron riegos irregulares durante los siguientes ocho meses y fueron evaluados a los 12 mda. Se evaluaron las variables descritas en los cuadros 2 y 3.

Cuadro 4. Variables morfológicas evaluadas en la etapa de invernadero a los 12 meses después de aclimatadas en plantas de quequisque Blanco (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) y quequisque Lila (*Xanthosoma violaceum* L. Schott) irradiadas con rayos X y establecidas en 2021

N°	Variable	Descripción
1.	Altura de planta (cm)	Se midió a partir de la base del pseudotallo hasta la inserción del pecíolo en la lámina de la hoja de mayor altura
2.	Número de hojas	Se realizó el conteo de hojas totales presentes en la planta principal.
3.	Diámetro de pseudotallo (cm)	Se midió el diámetro de inserción de la vaina de la hoja en la base de la planta haciendo uso del vernier.
4.	Área foliar (cm)	Se obtuvo multiplicando el largo por el ancho de la hoja de mayor altura y por 0.923 (Aagueguia, 1993)

4.10 Análisis de datos

A las variables morfológicas evaluadas en invernadero (altura de la planta, número de hojas, área foliar y diámetro del pseudotallo) se les realizó un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal Wallis) debido a que los datos no cumplieron con la normalidad según la prueba de Shapiro Wilks, ni la homogeneidad de la varianza según la prueba de Levene. Se utilizó el programa de InfoStat.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Número de líneas en etapa *in vitro*

El número de líneas en el quequisque Lila y Blanco se redujo al pasar las etapas de multiplicación. En XS7, XS9 y XS11 el número de líneas en la M_1V_2 fue de 115, 36 y 33 líneas respectivamente y en la M_1V_7 fueron 7, 4 y 9 líneas respectivamente. En XV5, XV7 y XV9 la M_1V_2 se registraron 145, 196 y 77 líneas respectivamente y en la M_1V_7 el número de líneas fue de 14, 25 y 17 líneas respectivamente (Figura 2).

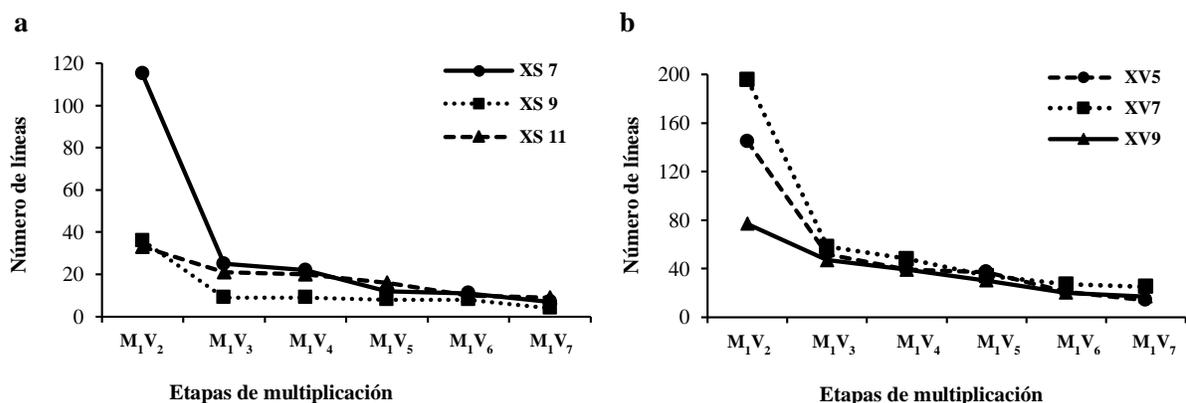


Figura 2. Número de líneas en las etapas de multiplicación M_1V_2 – M_1V_7 de: a. quequisque Blanco irradiado con 7, 9 y 11 Gy (XS7, XS9 y XS11) de rayos X y b. quequisque Lila irradiado con 5, 7 y 9 Gy (XV5, XV7 y XV9) de rayos X.

La reducción en el número de líneas en ambas especies de quequisque multiplicadas *in vitro* son atribuidas a la irradiación con rayos X aplicadas que tuvieron un efecto en la mortalidad de las plantas en algunas líneas, Spencer-Lopes *et al* (2018b) indica que la letalidad de las radiaciones causa alteraciones cromosómicas en varios sistemas, en las células en división, y las células sin división, mueren después de la radiación denominado muerte entre fases, que normalmente ocurre con altas dosis de radiación. Para Nielen *et al.*, (2021) la inducción de mutación con irradiaciones puede que sea la causa del desarrollo, crecimiento de brotes, incapacidad de generar nuevos brotes y muerte de las plantas están vinculados al deterioro cromosómico o extracromosómico.

Saborío *et al.* (2004) indujeron mutaciones en quequisque y afirman que las dosis irradiación gamma más bajas utilizadas (10 Gy) provoca efectos considerables en el desarrollo de la planta (crecimiento general y altura de la planta), con superiores dosis a la utilizada tendrán un mayor efecto en el desarrollo de las plantas por lo cual no será posible multiplicar las plantas.

De acuerdo a (Hasim *et al.*, 2021) la inducción de mutación con altas dosis de radiación no permite generar nuevos explantes, también pueden morir hasta con las dosis más bajas de irradiación. Las radiaciones tienen efectos fisicoquímicos, bioquímicos y genómicos afectando el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Lagoda, 2009).

Otra causa de la reducción en el número de líneas fue debido a las contaminaciones en los medios de cultivo, según Alvarado (1998) los principales problemas frecuentes de la micropropagación son a causa de la contaminación microbiana que generan cuantiosas pérdidas de material vegetal.

5.2 Promedio de plantas por líneas en etapa *in vitro*

En XS7, XS9 y XS11 el número promedio de plantas por líneas aumentó después de cada multiplicación. El promedio de plantas por línea en la M_1V_2 fue de 2.32, 2.27 y 2.48 respectivamente, y M_1V_7 fue de 78.24, 29.75 y 52.78 respectivamente. En XV5, XV7 y XV9 se registraron en la M_1V_2 6.62, 3.69 y 5.30 plantas promedio, en la M_1V_7 el número plantas promedio por línea fueron 50.14, 176.04 y 35 plantas promedio, respectivamente (Figura 3)

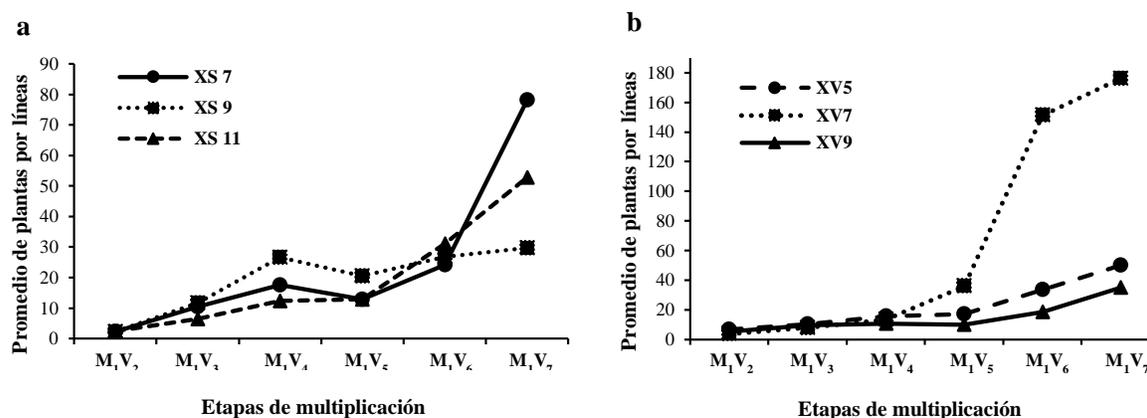


Figura 3. Promedio de plantas por líneas en las etapas de multiplicación M_1V_2 - M_1V_7 en: a. quequisque Blanco irradiado con 7, 9 y 11 Gy (XS7, XS9 y XS11) de rayos X y b. quequisque Lila irradiado con 5, 7 y 9 Gy (XV5, XV7, y XV9) de rayos X.

Las plantas de las líneas que han sobrevivido y se han multiplicado en cada etapa de multiplicación, es debido a la capacidad de generar nuevos brotes con facilidad y rapidez lo que les permite subsistir. Hasim *et al.* (2021) indican que las irradiaciones pueden influir positivamente sobre el crecimiento y generación de nuevos brotes debido a la capacidad de la planta de responder a la radiación.

5.3 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XV-5

La tasa de multiplicación del quequisque Lila con dosis de irradiación de 5 Gy en la etapa M_1V_3 el 9.62% de las líneas (2, 6, 32, 33 y 36) no produjeron brotes, el 71.15% produjo de 1 a 2 brotes por planta y el 19.23% de las líneas produjeron 3 y 4 brotes por plantas (Figura 4, Anexo 1).

En la etapa M_1V_4 el 69% de las líneas produjo entre 1 a 2 brotes, el 21% de las líneas entre 3 a 4 brotes por planta, el 5.1% (líneas: 36 y 89) tuvieron de 5 a 6 brotes por planta, el 2.6% (línea 2) 8 brotes y el 2.6% (línea 24) produjo 9 brotes. En la etapa M_1V_5 el 86.49% de las líneas registró de 1 y 2 brotes, el 8.11% de 3 a 4, el 2.70% (línea 89) tuvo 6 brotes por planta y el 2.70% (línea 24) produjo 33 brotes (Figura 4, Anexo 1).

En la etapa M_1V_6 se registró que el 52.38% de líneas poseían de 1 a 2 brotes por planta, el 42.86% de las líneas entre 3 a 4 brotes y el 4.76% de las líneas obtuvo 6 brotes por planta. En la etapa M_1V_7 la línea 16 (7.14%) registró 2 brotes por planta, el 35.71% (líneas 8, 9, 13, 25 y 51) registraron 3 y 4 brotes por planta, el 50% entre 5 a 6 brotes por plantas y la línea 14 que representa el 7.14% registró 7 brotes por planta (Figura 4, Anexo 1).

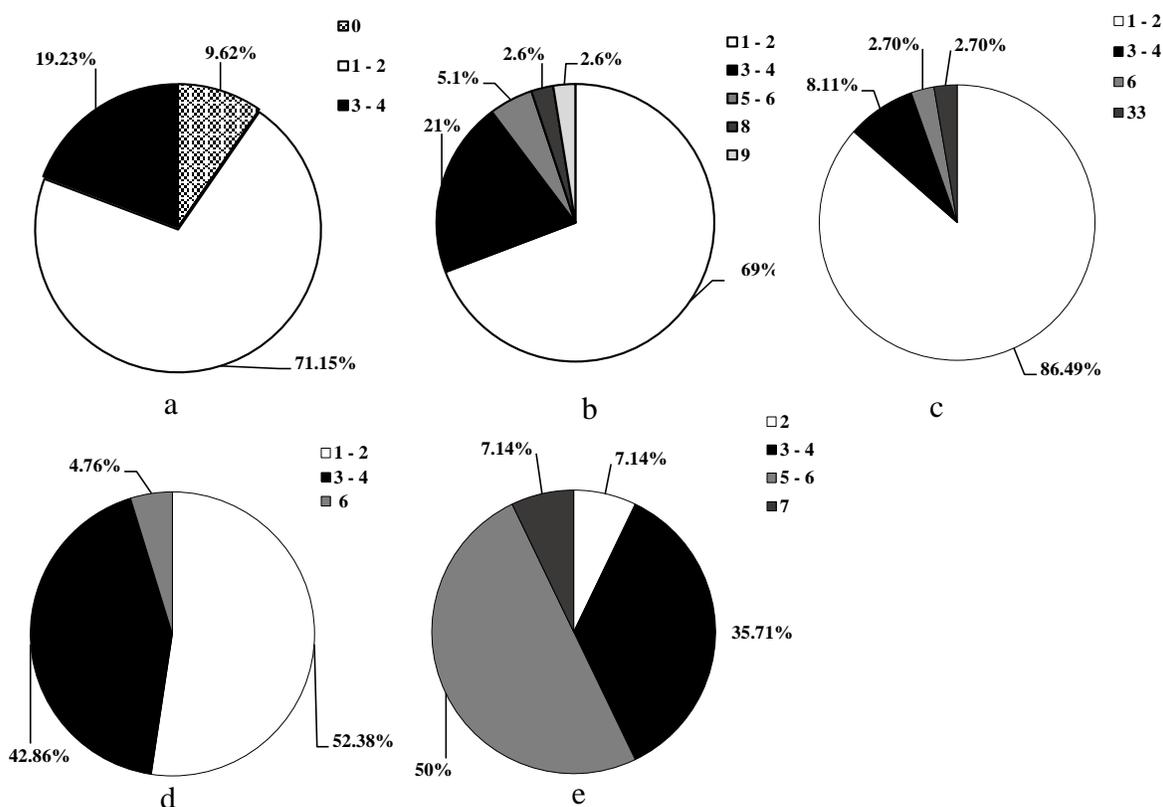


Figura 4. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 5 Gy (XV5) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

5.4 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XV-7

En el quequisque Lila con dosis de irradiación de 7 Gy, la tasa de multiplicación en la etapa M_1V_3 fue de 0 brotes en la línea 27 (1.72%), para el 58.62% de las líneas de 1 a 2 brotes por planta, el 18.9% de las líneas obtuvieron entre de 3 a 4 brotes por planta, el 13.79% de las líneas produjeron de 5 a 6 brotes por planta, el 5.17% (líneas 107, 121, 123) tienen 7 a 8 brotes y el 1.72% (línea 55) registró 9 brotes por planta. (Figura 5, Anexo 2).

En la tasa M_1V_4 el 72.92% de las líneas obtuvieron entre 1 a 2 brotes por planta, el 16.67% de las líneas tuvieron de 3 a 4 brotes por planta, el 4.17% (líneas 1 y 11) tuvo 5 y 6 brotes por planta, el 4.17% (líneas 40, 41) tuvo 7 a 8 brotes por planta, el 2.08% (línea 27) obtuvo 12 brotes por planta. En la etapa M_1V_5 el 73.53% de las líneas registró entre 1 a 2 brotes por planta, el 23.53% obtuvo entre 3 a 4 brotes por planta, el 2.94% (línea 11) registró 14 brotes por planta (Figura 5, Anexo 2).

En la etapa de multiplicación M_1V_6 el 7.41% (líneas 26 y 54) obtuvieron entre 1 a 2 brotes por línea, el 62.96% entre 3 a 4 brotes por planta, el 22.22% de las líneas entre 5 a 6 brotes por planta, el 3.70% (línea 2) registró 10 brotes por planta y el 3.70% (línea 11) registró 30 brotes por planta. En la etapa de M_1V_7 el 48% de las líneas obtuvo de 1 a 2 brotes por línea, el 20% de las líneas tenían entre 3 a 4 brotes, el 28% registró entre 5 a 6 brotes por plantas, y el 4% (línea 11) 40 brotes por planta (Figura 5, Anexo 2).

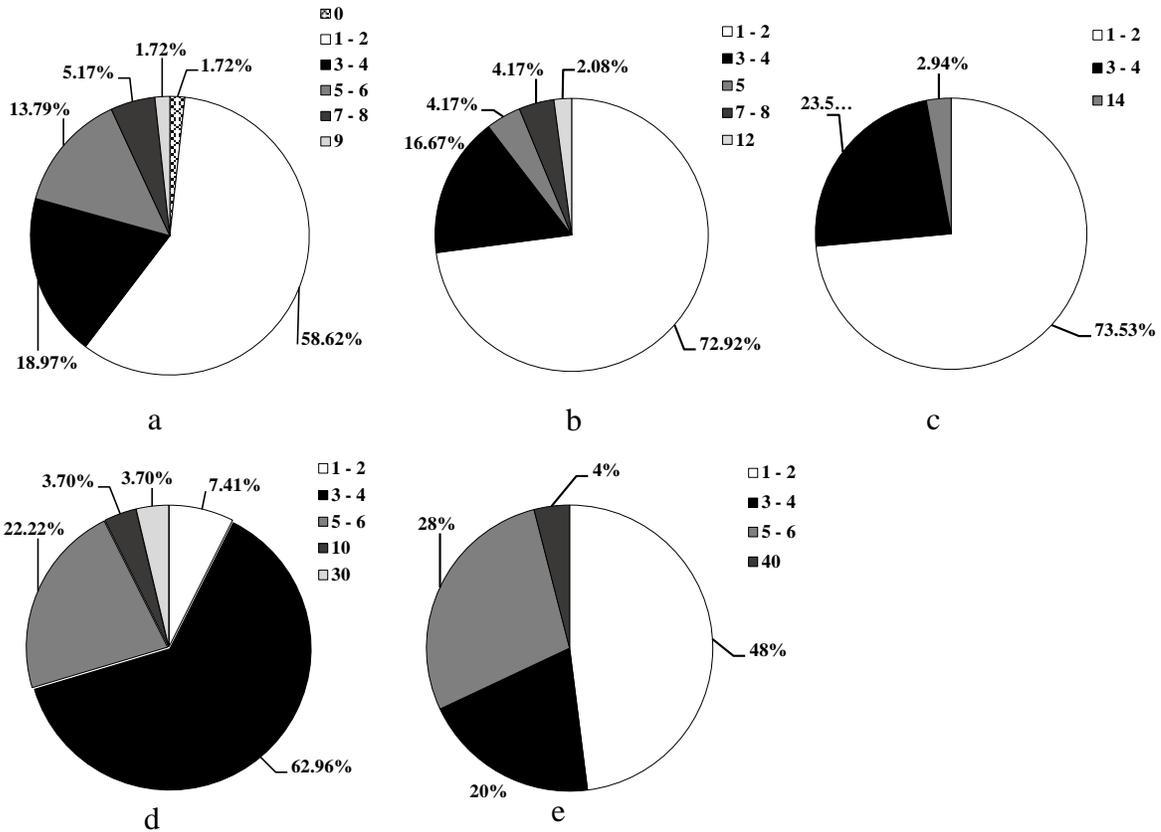


Figura 5. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 7 Gy (XV7) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

5.5 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XV-9

La tasa de multiplicación del quequisque Lila con dosis de irradiación de 9 Gy, en la etapa M_1V_3 para 51.06% de las líneas produjo de 1 a 2 brotes, el 29.79% de las plantas obtuvieron entre 3 a 4 brotes, el 14.89% registraron entre 5 a 6 brotes, el 2.13% (línea 57) obtuvo 8 brotes por planta, el 2.13% (línea 35) obtuvo 11 brotes por planta (Figura 6, Anexo 3).

En la etapa M_1V_4 el 92.31% de las líneas obtuvieron de 1 a 2 brotes por planta, el 5.13% (líneas 3 y 13) registraron de 3 brotes por planta y la línea 23 (2.56%) 8 brotes por planta. En la etapa M_1V_5 el 16.67% de las líneas no generaron brotes, el 70% obtuvieron de 1 a 2 brotes y las líneas 28, 31, 33, 40 (13.33%) produjeron de 3 a 4 brotes por plantas (Figura 6, Anexo 3).

En la etapa M_1V_6 el 20% (líneas 23, 39, 41, 53) registró entre 1 a 2 brotes, el 45% de 3 a 4 brotes, el 25% produjo brotes de 5 a 6 brotes y el 10% (líneas 12 y 25) 8 brotes. En la etapa M_1V_7 el 64.71% de las líneas obtuvieron de 1 a 2 brotes por planta, 11.76% (líneas 40 y 47) tuvieron de 3 a 4 brotes, el 17.65% (líneas 13, 39 y 41) poseían entre 5 a 6 brotes y la línea 25 (5.88%) registró de 7 brotes por plantas (Figura 6, Anexo 3).

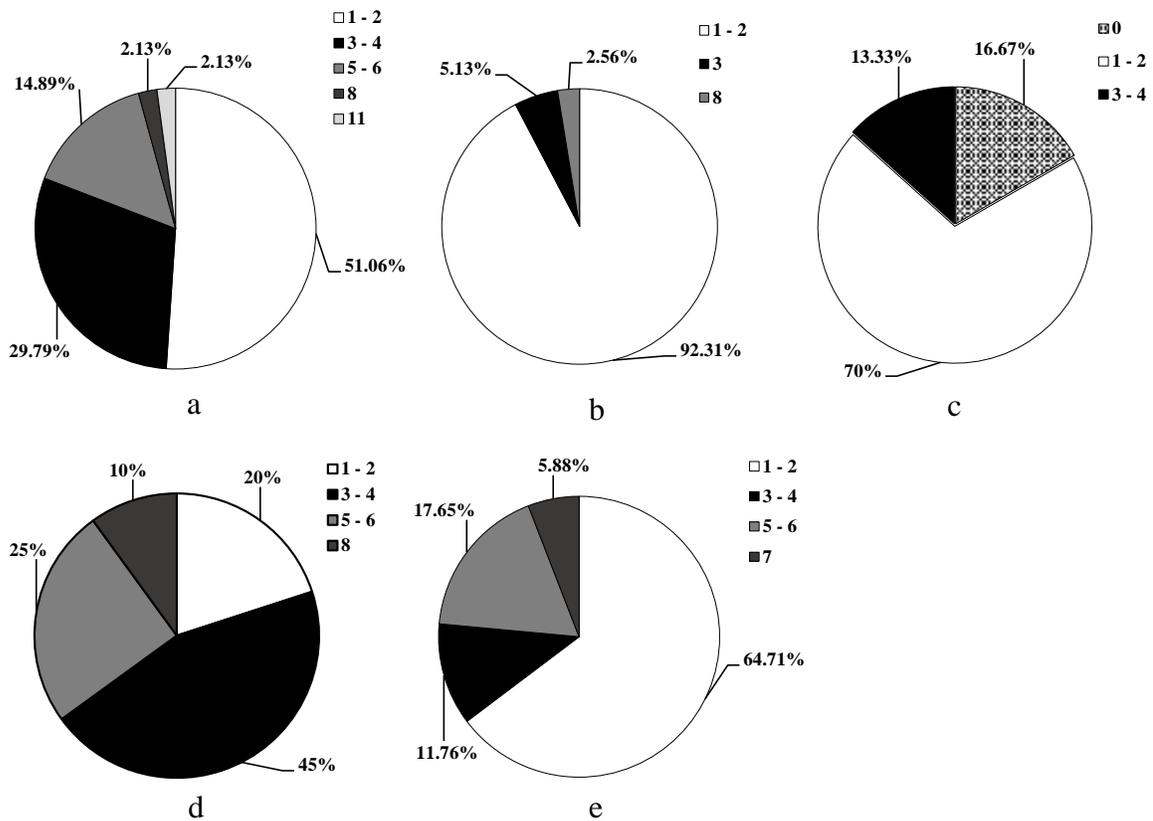


Figura 6. Número de brotes por línea de quequisque Lila irradiada con 9 Gy (XV9) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

5.6 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XS-7

En quequisque Blanco con dosis de irradiación de 7 Gy, la tasa de multiplicación en la etapa M_1V_3 fue entre 1 a 2 brotes en 24% de las líneas, el 24% de las líneas obtuvieron entre 3 a 4 brotes por planta, el 28% de las líneas entre 5 a 6, el 8% (líneas 2 y 13) de 7 a 8 brotes, el 8% (línea 1 y 5) registraron 11 brotes por planta, la línea 12 (4%) obtuvo 12 brotes por planta y la línea 15 (4%) obtuvo 22 brotes por planta (Figura 7, Anexo 4).

En la etapa M_1V_4 el 77% de las líneas obtuvieron entre 1 a 2 brotes por planta, el 23% de las líneas tuvieron de 3 a 4 brotes por planta. En la etapa M_1V_5 el 8.33% (línea 13) de las líneas no produjo brotes, 83.33% de las líneas registró de 1 a 2 brotes por planta, la línea 16 (8.33%) obtuvo entre 3 brotes por planta (Figura 7, Anexo 4).

En la etapa M_1V_6 la línea 1 (9.09%) no produjo brotes el 27.27% (líneas 8, 17 y 25) obtuvieron entre 1 a 2 brotes por planta, el 18.18% (líneas 2 y 20) entre 3 a 4 brotes por planta, las líneas 7, 13, 15 y 16 (36.36%) obtuvieron entre 5 a 6 brotes por planta, y el 9.09% que corresponde a la línea 12 registró 7 brotes por planta. En la etapa M_1V_7 el 29% (líneas 15 y 25) produjo de 1 a 2 brotes por planta, el 29% (líneas 8 y 16) tuvieron entre 3 a 4 brotes y el 43% (líneas 2, 12 y 13) tuvieron 5 brotes por planta (Figura 7, Anexo 4).

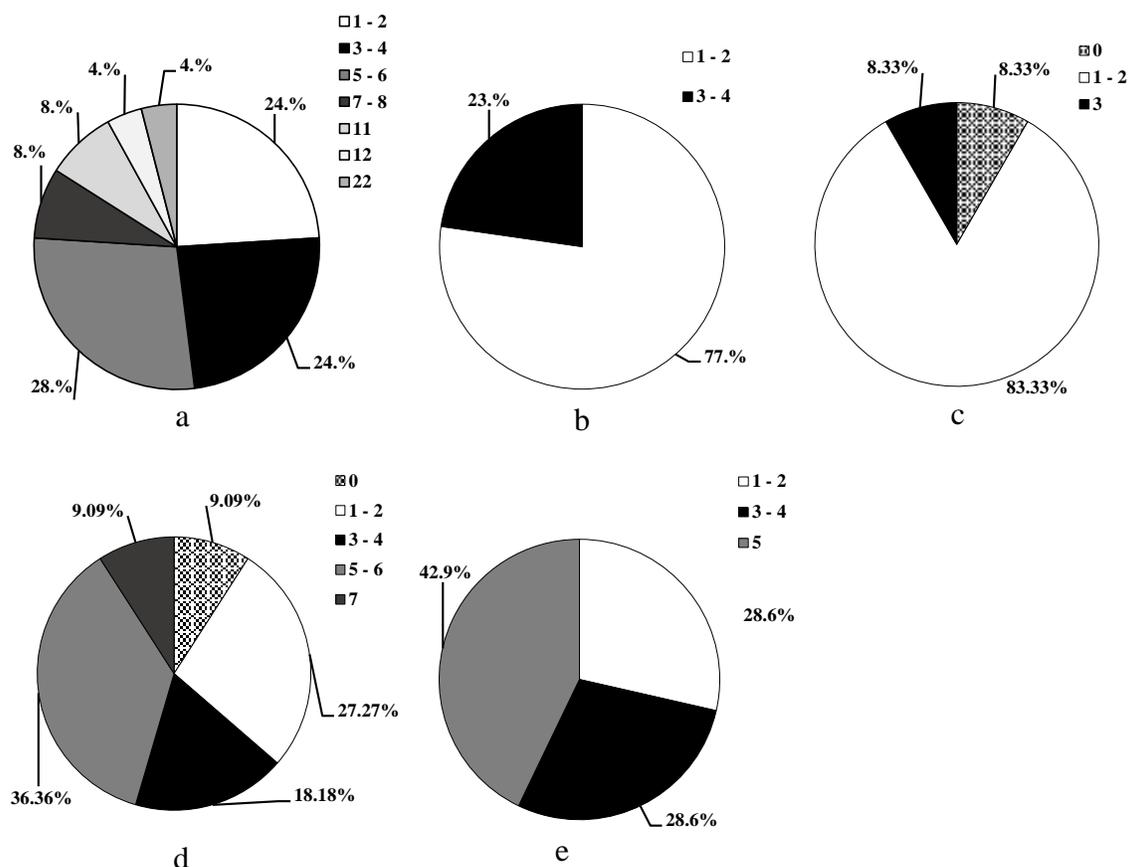


Figura 7. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 7 Gy (XS7) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

5.7 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XS-9

En el quequisque Blanco con dosis de irradiación de 9 Gy, la tasa M_1V_3 2 brotes obtuvo la línea 13 (11.11%), el 44.44% (líneas 10, 12, 14 y 25) obtuvieron 3 y 4 brotes por planta, el 22.22% (líneas 6 y 8) entre 5 a 6 brotes, el 11.11% (línea 19) registró 7 brotes y la línea 23 (11.11%) registró 10 brotes por planta (Figura 8, Anexo 5).

En la tasa M_1V_4 el 55.56% obtuvieron entre 1 a 2 brotes por planta, las líneas 13, 19 y 23 (33.33%) tuvieron de 3 a 4 brotes por planta y la línea 12 (11.11%) produjo de 7 brotes por planta. En la etapa M_1V_5 todas las líneas produjeron de 1 a 2 brotes por planta (Figura 8, Anexo 5).

En la etapa M_1V_6 el 50% (líneas 10, 13, 14 y 23) obtuvieron de 1 a 2 brotes por planta, y el otro 50% de las líneas obtuvieron de 3 brotes por planta. En la etapa M_1V_7 el 75% (líneas 13, 19 y 25) produjeron de 3 a 4 brotes por planta y el 25% (línea 8) tuvo de 7 brotes por planta (Figura 8, Anexo 5).

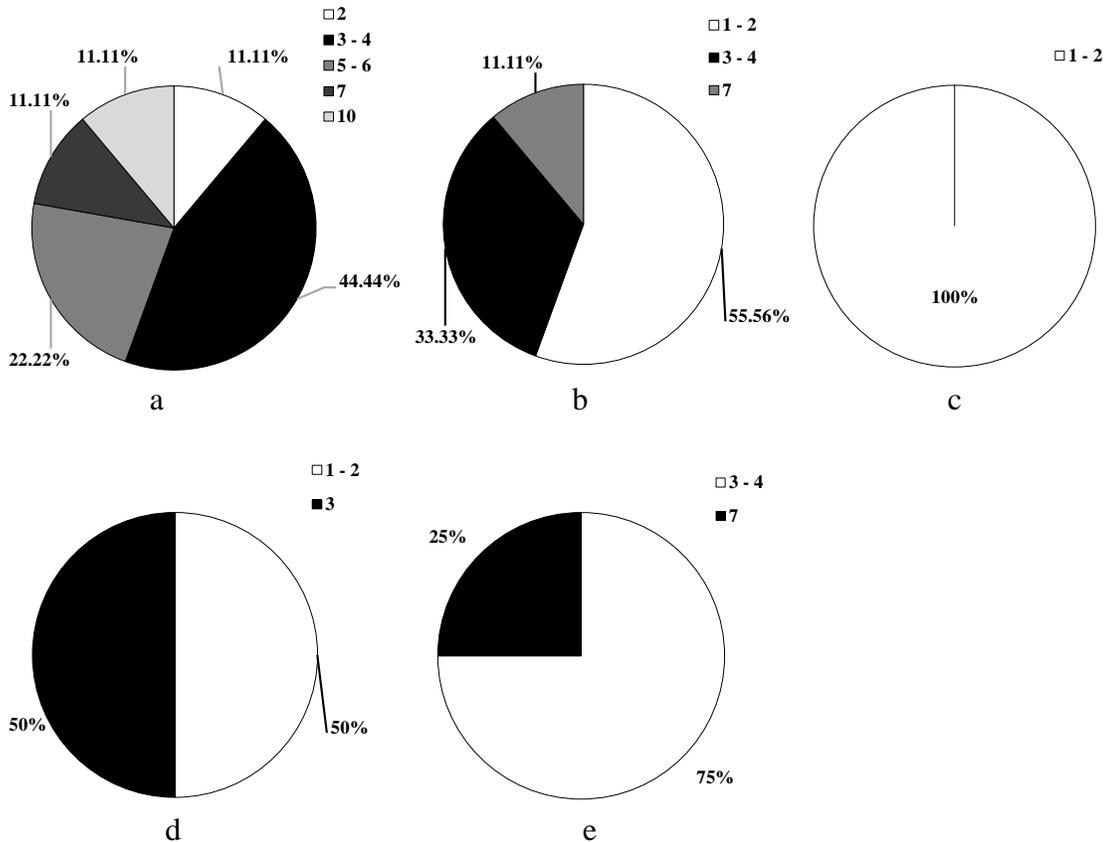


Figura 8. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 9 Gy (XS9) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

5.8 Tasa de multiplicación de plantas *in vitro* de XS-11

En quequisque Blanco con dosis de irradiación de 11 Gy, la tasa de multiplicación en la etapa M_1V_3 fue de 1 a 2 brotes por planta en el 42.86% de las líneas, el 33.33% de las líneas de 3 a 4 brotes, el 9.52% (líneas 28 y 31) tuvieron 5 brotes, las líneas 9 y 16 (9.52%) produjeron 9 brotes, la línea 13 (4.76%) registró 11 brotes por planta (Figura 9, Anexo 6).

En la etapa M_1V_4 el 85.71% de las líneas obtuvieron de 1 a 2 brotes por planta, el 4.76% (línea 27) obtuvo 3 brotes por planta, la línea 12 (4.76%) produjo 5 brotes y la línea 15 (4.76%) produjo 7 brotes por planta. En la etapa M_1V_5 el 62.5% de las líneas tuvieron brotes de 1 a 2 brotes por planta, el 25% (líneas 4, 15, 16 y 25) registraron entre 3 a 4 brotes por planta, la línea 7 (6.3%) obtuvo de 5 brotes y la línea 27 (6.3%) obtuvo 7 brotes por planta (Figura 9, Anexo 6).

En la etapa M_1V_6 el 40% de las líneas (4, 15, 28 y 33) obtuvieron de 1 a 2 brotes por planta, el 50% de las líneas de 3 a 4 brotes por planta, la línea 25 (10%) tuvo de 10 brotes por planta. En la etapa de multiplicación M_1V_7 el 87.50% de las líneas produjeron de 1 a 2 brotes y el 12.50% (línea 7) tuvo de 3 brotes por planta (Figura 9, Anexo 6).

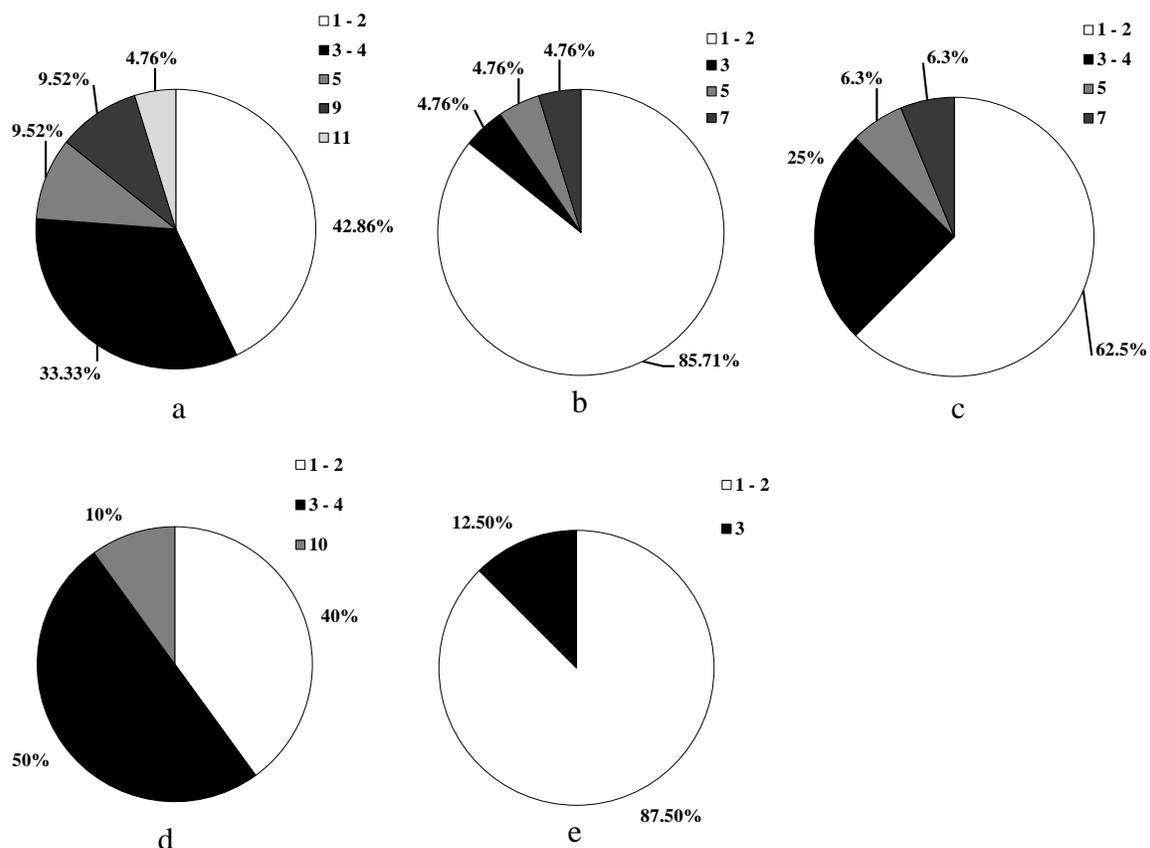


Figura 9. Número de brotes por línea de quequisque Blanco irradiada con 11 Gy (XS11) de rayos X en las etapas de multiplicación a: M_1V_3 , b: M_1V_4 , c: M_1V_5 , d: M_1V_6 , e: M_1V_7 .

En el quequisque Lila las líneas con mayor número de brotes por planta fueron XV5-35 con 33 brotes por plantas; XV7-11 con 40 brotes por planta; XV9-35 registrando hasta 11 brotes por planta. En el quequisque Blanco irradiado con 7 Gy las plantas que registraron mayor número de brotes fueron las líneas XS7-1, XS7-12 y XS7-15 produciendo hasta 22 brotes por plantas. En las plantas irradiadas con 9 Gy las líneas XS9-12 y XS9-23 produjeron hasta 10 brotes por planta. Con 11 Gy, las líneas XS11-13 y XS11-25 produjeron hasta 11 brotes por planta.

Nurilmala *et al.*, (2017) registraron que en plantas de *Colocasia esculenta* inducidas a mutación con radiación gamma, se obtuvieron 3.67 brotes por planta irradiando 5 Gy y con dosis de 10 Gy se generaron 4.33 brotes por planta. Hasim *et al.* (2021) obtuvo entre 5.5 y 6.8 brotes por planta irradiaciones entre 25 y 45 Gy, con 60 Gy el número de brotes se redujo a 2.9 brotes por planta en *Musa acuminata* cv. Berangan.

De acuerdo a Sarsu *et al.* (2021b) Las plantas *in vitro* irradiadas deben ser diseccionadas en subcultivos para identificar variaciones heredables en las generaciones registrándose en cada etapa las longitudes, número de brotes y plántulas que presentan anomalías fenotípicas por cada etapa de multiplicación.

Para Hasim *et al.* (2021) las irradiaciones en las plantas pueden prolongar el número de días que las plantas requieren para generar brotes. De acuerdo a Pabón (2011) las irradiaciones reducen el desarrollo de las plantas o la capacidad de regeneración. Sukamto (2004) en su estudio en *Colocasia esculenta* irradiadas con rayos gamma obtuvo que el 45 % de las plantas produjeron 1 brote por planta y el 44% de las plantas no produjo brotes.

5.9 Características morfológicas de plantas de quequisque lila *in vitro* de la línea XV7-11 irradiada con 7 Gy de rayos X.

La línea XV7-11 presentó plantas con hojas en forma lanceolada (hojas finas, alargadas, sin lóbulos) en la misma línea se encontraron plántulas que presentaron la hoja de forma redondeada sin lóbulos (no sobrevivieron a la etapa *in vitro*), con ahijamiento tipo macolla o grama con una producción de 40 brotes por planta (Figura 10).

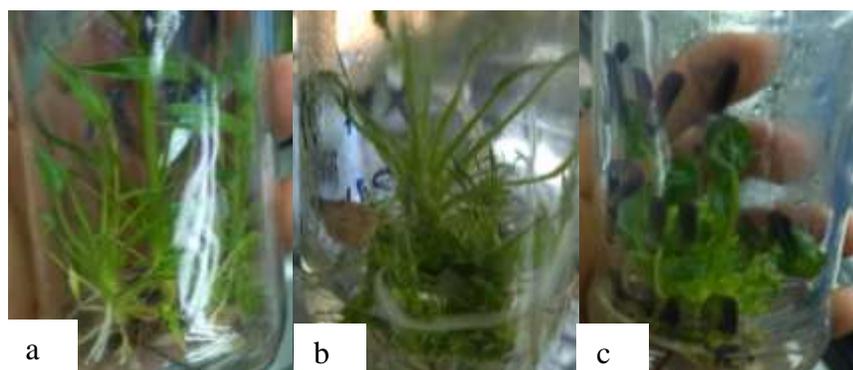


Figura 10. Plantas de quequisque Lila de la línea XV7-11 irradiada con rayos X en etapa de multiplicación *in vitro*. a. plantas con hojas alargadas y sin lóbulos b. plantas con forma de macolla c. plantas con hojas redondeadas.

En cada una de las etapas de multiplicación esta línea duplicó el número de brotes por plantas el desarrollo de los brotes fue lento y las plantas tuvieron una altura menor a 7 cm. Según Sarsu *et al.*, (2021a) en cada subcultivo el número de plantas o de brotes se duplican. El poco desarrollo de biomasa es consecuente a la densidad de brotes por planta producidos (Pérez, 1998).

5.10 Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila irradiadas con rayos X reproducidas *in vitro* y aclimatadas en el invernadero

Las plantas de la línea XV5-10 registraron hojas con borde encrespado, lóbulos diferentes y discolora. La línea XV5-68 mostró hojas oblongas con base acorazonada y lóbulos diferentes con bordes revoluto. La línea XV7-6 presentó dos tipos de hojas: una hoja redondeada crasa, color verde oscuro con lóbulos pequeños y asimétricos y ceno foliar descubierto el otro tipo de hoja fue sagitada asimétrica discolora con lóbulos diferentes y con una mancha en la cara izquierda (Figura 11).



Figura 11. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja de la línea XV5-10; b. hoja de la línea XV5-68; c. hoja redondeada crasa, con lóbulos pequeños y asimétricos con ceno foliar descubierto de la línea XV7-6; d. hoja sagitada asimétrica discolora y lóbulos diferentes y con una mancha en la cara izquierda de la línea XV7-6.

La línea XV7-7 presentó hojas asimétricas y borde de la lámina encrespados discolora, la línea XV7-8 presentó dos tipos de hojas, una asimétrica discolora con manchas en una cara con la nervadura principal brillante, lóbulos diferentes uno redondeado y la otra con punta y el otro tipo de hoja totalmente asimétrica deforme y nervaduras de color verde claro grisáceo con una cara de la lámina atrofiada (Figura 12).



Figura 12. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hojas asimétricas y borde de la lámina encrespados discolora de la línea XV7-7; b. hoja asimétrica discolora con manchas en una cara con la nervadura principal brillante, lóbulos diferentes uno redondeado y la otra con punta de la línea XV7-8; c. hoja asimétrica deforme y nervaduras de color verde claro grisáceo con una cara de la lámina atrofiada de la línea XV7-8.

La línea XV7-11 mantuvo las características que presentó en etapa *in vitro* (figura 10), y se observaron hojas crasas, de formas lanceoladas o subuladas, asimétricas, sin lóbulos con nervaduras hifódromas y ápice agudo (Figura 13).

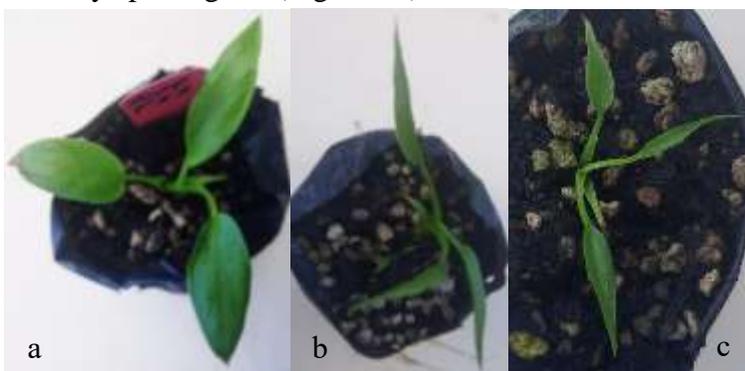


Figura 13. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* de la línea XV7-11 irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja lanceolada; b. y c. hoja subulada.

La línea XV7-12 presentó plantas con hojas crasas, brillantes, discoloras con lóbulos diferentes y nervaduras hifódromas, de forma cordiforme asimétrica y cordiforme redondeada distorciónada, con dos tipos de ápices redondeado y apiculados y dos tipos de ceno foliar: cubierto y descubierto. En la línea XV7-101 se presentaron hojas crasas oblonga con base acorazonada y de lóbulos pequeños diferentes, ceno foliar descubiertos, hifódromas, bordes revolutos y de colores verde oscuro y verde claro con una mancha cerca del ápice (Figura 14).

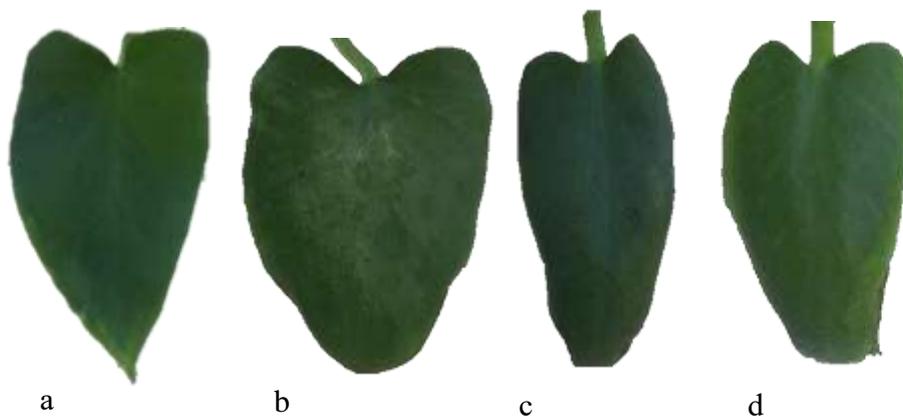


Figura 14. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja cordiforme asimétrica con ápice apiculado y ceno foliar no descubierto de la línea XV7-12; b. hoja cordiforme redondeada con ápice redondeado y ceno foliar descubierta de la línea XV7-12; c. hojas color verde oscuro de la línea XV7-101; d. hojas color verde claro con mancha cerca del ápice de la línea XV7-101.

Las plantas de la línea XV9-25 presentó hojas discoloras, lámina ondulada, lóbulos diferentes y ceno foliar cubierto, la línea XV9-44 presentó una planta con hojas de forma oblonga con la base acorazonada y lóbulos asimétricos con punta, lamina de color verde oscuro con manchas verde clara en los bordes del ápice. La línea XV9-45 tuvo hojas de forma sagitada asimétrica distorsionada, discolora con borde encrespados ondulados y con una mancha blanca en el borde derecho. la línea XV9-46 presentó hojas de forma sagitada asimétrica, crasa, lámina encrespada y ondulada, con manchas amarillentas en la parte apical de la lámina (Figura 15).

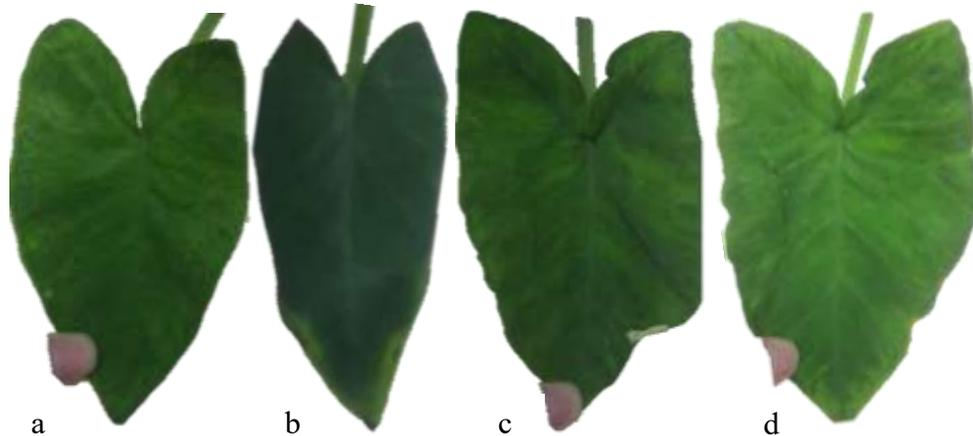


Figura 15. Formas de la hoja de plantas de quequisque Lila *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja discoloras, lámina ondulada, lóbulos divergentes y cenofoliar cubierto de la línea XV9-25; b. hoja oblonga con la base acorazonada y lóbulos asimétricos con punta de la línea XV9-44; c. hoja sagitada asimétrica distorsionada, discolora con borde encrespados ondulados y con una mancha blanca en el borde derecho de la línea XV9-45; d. hoja sagitada asimétrica, crasa, lámina encrespada y ondulada, con manchas amarillentas en la parte apical de la lámina de la línea XV9-46.

5.11 Forma de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X reproducidas *in vitro* y aclimatadas en el invernadero

La línea XS7-17 presentó hojas discoloras con la lámina ondulada, ápice truncado y con nervaduras resaltadas de color verde oscuro y hojas con forma falcada, lóbulos asimétricos y ápice agudo. La línea XS9-8 presento hojas de forma lanceoladas y falcadas con base acorazonada, lámina asimétrica, lóbulos diferentes, verde oscura y discolora, lámina doblada hacia el has con ápice acuminatado. La línea XS9-14 mostró plantas con hojas color amarillento como virosis y nervadura color verde oscuro (Figura 16).

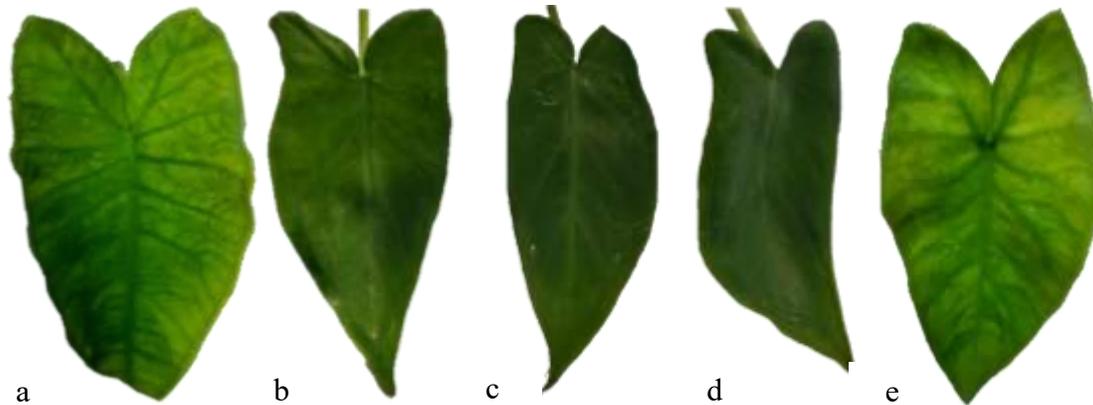


Figura 16. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco *in vitro* irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja discolora con lámina ondulada y ápice truncado de la línea XS7-17; b. hoja falcada con ápice agudo de la línea XS7-17; c. hoja falcada con base acorazonada de la línea XS9-8; d. hoja de la línea XS9-8; d. hoja color amarillento como virosis y nervadura color verde oscuro de la línea XS9-14.

La línea XS9-19 obtuvo plantas con hojas en forma sagitada asimétricas y lanceoladas con la base acorazonada, lamina color verde claro con venas y vénulas resaltadas de color verde oscuro tipo virosis y con ápice del tipo agudo y apiculado (Figura 17).

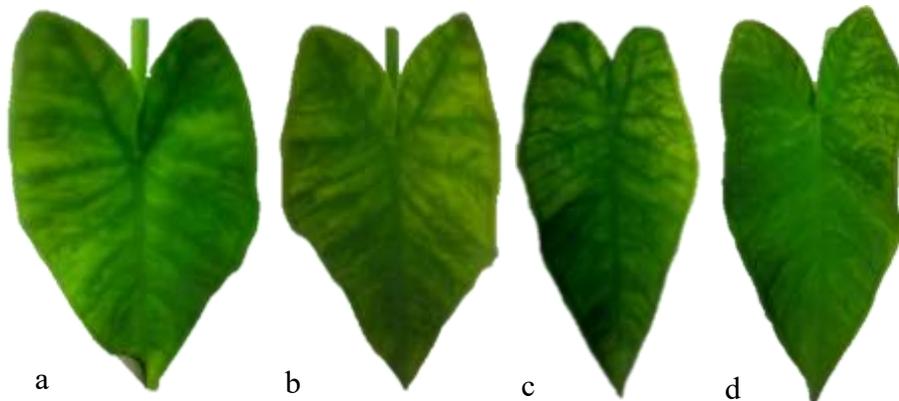


Figura 17. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. y b. hoja sagitada asimétrica con ápice agudo de la línea XS9-19 c. hoja lanceolada con ápice agudo de la línea XS9-19; d. hoja lanceolada con ápice apiculado de la línea XS9-19.

En la línea XS9-25 se presentaron diferentes tipos de hojas: asimétricas discolora con venas y vénulas resaltadas de color verde oscuro, con lóbulos diferentes, uno redondeado y otro con punta y ápice agudo, hoja lanceolada con base acorazonada y ápice cuspidado, lóbulos diferentes de color verde oscuro y bordes ondulados. Hoja asimétrica con lóbulos traslapados, lámina ondulada discolora y con nervadura verde oscura. Hoja con nervadura blanquecina y manchas en la lámina (Figura 18).

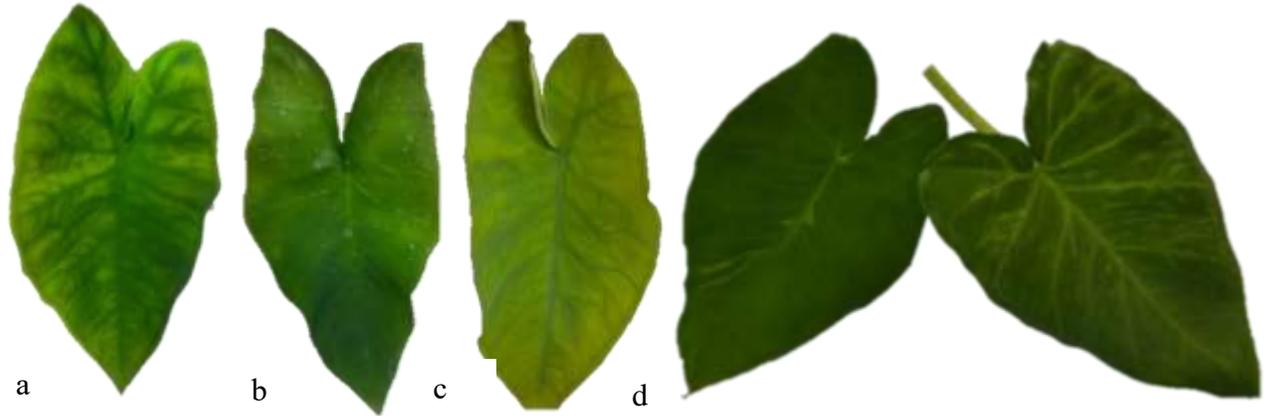


Figura 18. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X de la línea XS9-25 evaluadas en invernadero: a. hoja asimétrica discolora con venas y vénulas resaltadas de color verde oscuro; b. hoja lanceolada con base acorazonada y ápice cuspidado; c. hoja asimétrica con lóbulos traslapados; d. hoja con nervadura blanquecina y manchas en la lámina.

En la línea XS11-4 se registraron hojas asimétricas con bordes ondulados, venas laterales no definidas y discolora. En la línea XS11-7 se presentaron hojas con forma cordiforme asimétrica y lanceoladas con base acorazonada, con lóbulos diferentes y asimétricos, con manchas en una cara de la lámina (Figura 19).

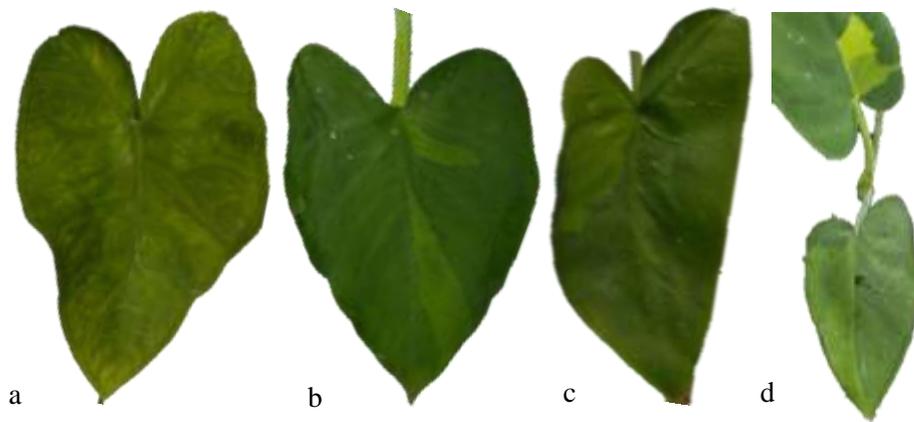


Figura 19. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja de la línea XS11-4; b. hoja cordiforme asimétrica de la línea XS11-7; c. hoja lanceolada con base acorazonada y mancha en lámina izquierda de la línea XS11-7; d. hojas lanceoladas con base acorazonada y mancha en las láminas izquierda de la línea XS11-7.

La línea XS11-7 presentó hojas con formas diferentes: sagitadas, falcadas y lanceoladas con base acorazonada, discoloras, con una lámina atrofiada y lóbulos diferentes con ápices cirroso y agudo. En la línea XS11-12 se observaron plantas con hojas reniforme, discoloras con lóbulos grandes, redondeados y traslapados, con bordes ondulados, ceno foliar cubierto y ápice truncado (Figura 20).



Figura 20. Formas de la hoja de plantas de quequisque Blanco irradiadas con rayos X evaluadas en invernadero: a. hoja sagitada con base acorazonada y ápice cirroso de la línea XS11-7; b. hoja falcada asimétrica con ápice agudo de la línea XS11-7; c. hoja lanceolada con base acorazonada y ápice agudo de la línea XS11-7; d. hojas de la línea XS11-12.

Corea (2007) obtuvo variaciones en las formas de las hojas (forma redondeadas, forma de basto, con borde rugoso, alargadas, sin lóbulos, decolorada, con punta enrollada, lóbulos deformes y peciolo alargado) en quequisque inducido a generar callos con 2-4D donde el material de La Escalera obtuvo el 17.4% de las variaciones.

5.12 Disponibilidad de agua y altas temperaturas sobre variables morfológicas evaluadas en invernadero

En el año 2021 se sembraron algunas plantas *in vitro* de las líneas de quequisque Blanco y Lila para ser aclimatadas y evaluadas en el invernadero, por problemas en el sistema eléctrico de la bomba de riego las plantas no recibieron suficiente agua en el primer mes de establecimiento y el invernadero alcanzó temperaturas de hasta 50°C en los momentos más calurosos del día, en esta condición estuvieron expuestas en el primer mes de establecimiento y luego tuvieron riegos irregulares durante los siguientes ocho meses, por este motivo sólo sobrevivieron el 21 % de las líneas de quequisque Lila y el 48% de las líneas de quequisque Blanco (Cuadro 4).

En quequisque Lila con dosis de irradiación de 5 Gy sobrevivieron las líneas: XV5-3, XV5-8, XV5-9, XV5-10, XV5-110 y XV5-111 con 19 % a 100 % de sobrevivencia en cada línea. En la dosis 7 Gy sobrevivió la línea XV7-7 con 58 % de plantas vivas. En la dosis 9 Gy sobrevivieron seis líneas: XV9-25, XV9-39, XV9-44, XV9-45, XV9-46 y XV9-48 con 13 y hasta 50% de sobrevivencia (Cuadro 4).

En quequisque Blanco con dosis de irradiación de 7 Gy sobrevivieron las líneas: XS7-1 y XS7-17 con 17% y 50% de plantas vivas. Con dosis de irradiación 9 Gy sobrevivieron las líneas XS9-13, XS9-14, XS9-19 y XS9-25 con 14 y hasta 83% de sobrevivencias. En la dosis 11 Gy sobrevivieron las líneas XS11-7, XS11-12, XS11-16, XS11-26, XS11-28, XS11-31 y XS11-33) con 14% y hasta 100% de plantas vivas (Cuadro 4).

Cuadro 5. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de las líneas de quequisque Lila y Blanco irradiadas con rayos X y trasplantadas al invernadero.

Línea	Porcentaje de sobrevivencia	Línea	Porcentaje de sobrevivencia	Línea	Porcentaje de sobrevivencia
Quequisque Lila					
XV5-2	0	XV7-2	0	XV7-121	0
XV5-8	100	XV7-6	0	XV7-125	0
XV5-9	19	XV7-7	58	XV7-135	0
XV5-10	40	XV7-8	0	XV9-12	0
XV5-12	0	XV7-10	0	XV9-13	0
XV5-13	0	XV7-11	0	XV9-23	0
XV5-14	0	XV7-20	0	XV9-25	38
XV5-16	0	XV7-23	0	XV9-28	0
XV5-7	0	XV7-12	0	XV9-39	50
XV5-3	13	XV7-17	0	XV9-40	0
XV5-23	0	XV7-27	0	XV9-41	0
XV5-24	0	XV7-53	0	XV9-44	100
XV5-25	0	XV7-55	0	XV9-45	40
XV5-26	0	XV7-60	0	XV9-46	17
XV5-53	0	XV7-101	0	XV9-48	13
XV5-68	0	XV7-106	0	XV9-47	0
XV5-86	0	XV7-110	0	XV9-53	0
XV5-89	0	XV7-115	0	XV9-57	0
XV5-110	38	XV7-118	0	XV9-66	0
XV5-111	35	XV7-120	0	XVT	0
Quequisque Blanco					
XS7-1	17	XS9-8	0	XS11-4	0
XS7-2	0	XS9-12	0	XS11-7	85
XS7-8	0	XS9-13	14	XS11-12	100
XS7-12	0	XS9-14	50	XS11-15	0

XS7-13	0	XS9-19	91	XS11-16	14
XS7-15	0	XS9-23	0	XS11-25	0
XS7-16	0	XS9-25	83	XS11-26	100
XS7-17	50			XS11-27	0
XS7-18	0			XS11-28	100
XST	32			XS11-31	75
				XS11-33	67

El cuadro 5 se muestra las medias de las variables morfológicas del quequisque Lila, de las líneas sobrevivientes en condiciones desfavorables en el invernadero donde línea XV5-111 fue de mayor altura (30.50 cm), la línea XV7-7 registró mayor área foliar (42.92 cm²), y la línea XV9-45 registró el mayor diámetro de pseudotallo (2.10 cm), no hubo diferencias en el número de hojas.

Cuadro 6. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis, medias y categorías estadísticas de altura de plantas (cm), número de hojas, área foliar (cm²) y diámetro de pseudotallo de quequisque Lila con las dosis de irradiación 5, 7, y 9 Gy evaluados a los 12 meses después de la aclimatación.

Genotipo y línea	Altura de la planta (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm ²)	Diámetro del pseudotallo (cm)
XV5-10	15.83 c	1.75 a	13.73 c	1.38 bc
XV5-110	27.90 ab	2.20 a	22.52 bc	1.22 c
XV5-111	30.50 a	3.00 a	32.29 bc	1.57 abc
XV5-3	20.00 abc	3.00 a	30.46 abc	1.60 abc
XV5-8	16.75 bc	2.00 a	13.38 c	1.45 bc
XV5-9	20.00 abc	2.67 a	24.00 abc	1.17 bc
XV7-7	26.07 abc	3.71 a	42.92 a	1.83 ab
XV9-25	16.00 bc	2.00 a	16.61 bc	1.33 abc
XV9-39	25.00 abc	2.67 a	17.84 bc	1.73 abc
XV9-44	24.67 abc	2.67 a	25.23 abc	1.27 bc
XV9-45	24.38 abc	2.25 a	23.77 abc	2.10 a
XV9-46	27.00 abc	3.00 a	31.84 ab	1.50 abc
XV9-48	28.50 ab	3.00 a	31.15 abc	1.90 ab
p-valor ($\alpha < 0.05$)	0.0246	0.064	0.021	0.032

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

En el cuadro 6 se encuentran las medias de las variables morfológicas del quequisque Blanco de líneas sobrevivientes en condiciones desfavorables en el invernadero donde las líneas XS11-12, XS11-16, XS11-26, XS11-31 y XS11-33 registraron mayor altura (27.57 a 34.80 cm). La mayor área foliar la registró la línea XS11-16 con 154.43 cm². En el diámetro de pseudotallo las líneas XS11-12, XS11-26 y XS11-31 fueron superiores con diámetros entre 2.15 y 2.50 cm. No hubo diferencias significativas en el número de hojas.

Cuadro 7. Análisis de varianza no paramétrica según Kruskal Wallis, medias y categorías estadísticas de altura de plantas (cm), número de hojas, área foliar (cm²) y diámetro de pseudotallo de quequisque Blanco con las dosis de irradiación 7, 9 y 11 Gy evaluados a los 12 meses después de la aclimatación.

Genotipo y línea	Altura de la planta (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm ²)	Diámetro del pseudotallo (cm)
XS11-12	27.57 a	3.17 a	132.90 ab	2.48 a
XS11-16	34.80 a	2.00 a	154.43 a	2.00 ab
XS11-26	29.50 a	4.00 a	144.04 ab	2.50 a
XS11-28	22.27 ab	3.18 a	113.18 ab	1.74 ab
XS11-31	27.90 a	3.17 a	108.80 ab	2.15 a
XS11-33	28.18 a	2.75 a	105.50 abc	1.93 ab
XS11-7	15.86 b	3.29 a	53.13 bc	1.66 ab
XS7-1	18.35 ab	2.00 a	79.75 abc	1.80 ab
XS7-17	17.40 ab	2.00 a	54.00 bc	2.00 ab
XS9-13	20.00 ab	4.00 a	64.61 abc	2.00 ab
XS9-14	12.00 b	3.00 a	49.84 c	2.00 ab
XS9-19	18.95 ab	2.50 a	72.35 abc	1.54 b
XS9-25	17.85 ab	2.50 a	59.07 bc	1.53 b
XST	20.28 ab	2.89 a	75.77 abc	1.67 ab
p-valor ($\alpha < 0.05$)	<0.0001	0.0651	<0.0001	0.0007

Medias con letras iguales, no hay significancia estadística.

Sukamto (2004) en su estudio en *Colocasia esculenta* (L.) irradiados utilizando la técnica *in vitro* y aclimatadas en invernadero, mostraron que a mayor dosis hubo una disminución en el crecimiento variando de 11 a 51 cm donde el 42% de las plantas tuvieron entre 31 y 40 cm de altura, el número de hojas fue de 2 a 6 donde el 50% de las plantas tenían 4 hojas. Para Nurilmala *et al.*, (2017) la dosis de 10 Gy en *Colocasia esculenta* es efectiva para generar mutantes con un gran número de hojas, pero no genera brotes.

Un estudio realizado en papa amarga (*Solanum juzepczukii*) aplicando la técnica de radiaciones en plantas *in vitro* evaluadas en invernadero, se obtuvieron un 85.6% plantas más pequeñas de 10 a 30 cm y las más altas de 30 a 35 cm (Murillo y Mendoza, 2004). Fadli *et al.*, (2018) demostró que a mayores dosis de irradiación las plantas tienen menor tamaño.

Las variaciones observables de las plantas de quequisque Lila y Blanco inducidas por las irradiaciones a diferentes dosis de rayos X son una reserva de genes que pueden ser utilizados en la mejora genética del cultivo, caracterizar y registrar estos cambios son acciones necesarias para continuar con el proceso de selección en invernadero que conlleva la exposición de las

plantas a *Pythium myriotylum* causante del mal seco. Con base a la reacción de las plantas a esta exposición se puede realizar una selección que muestre los niveles de resistencia que podrían presentar algunas de las plantas de quequisque mutadas. Según Pérez (1998), para lograr una selección eficiente en las poblaciones *in vitro* es necesario conocer el comportamiento de las mismas y cuando se realiza selección para resistencia se debe aplicar el patógeno *in vitro* o invernadero según sea el caso.

Existen algunas características entre las poblaciones de plantas de quequisque obtenidas producto de la irradiación a rayos X que no forman parte de los objetivos iniciales de la mejora pero que son de gran interés para procesos paralelos, una de estas características puede ser la reacción que presentaron algunas plantas irradiadas al incremento de la temperatura y baja humedad, como en el caso de las líneas reportadas en este estudio que sobrevivieron a condiciones desfavorable para su crecimiento, mostrando características particulares que pueden ser aprovechadas en futuros trabajos de resistencia a altas temperatura o a estrés hídrico. Toda la información registrada en la caracterización de estos materiales *in vitro* o invernadero de caracteres morfológicos solo pueden dar una idea de la variabilidad que se creó y deben ser sometidas al patógeno para seleccionar líneas con el carácter a mejorar.

VI. CONCLUSIONES

La tasa de multiplicación *in vitro* predominante de quequisque Lila y Blanco irradiado con rayos X fue de uno a dos brotes en cada etapa de multiplicación evaluada, no varió en función de las dosis de irradiación o de las etapas

La irradiación con rayos X a plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco tuvo un efecto en la morfología de las hojas, se registraron cambios en la forma de la base, ápice, lóbulos, bordes, nervadura, textura, tamaño y coloración de la lámina foliar en etapa *in vitro* e invernadero.

La sobrevivencia de las plantas *in vitro* de quequisque Lila y Blanco irradiadas con rayos X se redujo por las altas temperaturas y la disponibilidad de agua del invernadero, el 28 y 48 % de las líneas de quequisque Lila y Blanco sobrevivieron a estas condiciones, destacándose las líneas XV5-8, XV9-114, XS11-12, XS11-26 y XS11-28 donde sobrevivieron todas las plantas establecidas.

VII. RECOMENDACIONES

Evaluar el comportamiento de las plantas en campo para determinar su tolerancia a factores bióticos, abióticos, características fisiológicas y productivas.

Realizar conteo de cromosomas a partir de citometría de flujo para determinar variantes poliploides en ambas especies de quequisque irradiadas.

XIII. LITERATURA CITADA

- Agueguia, A. (1993), *Non-Destructive Estimation of Leaf Area in Cocoyam (Xanthosoma sagittifolium [L.] Schott)*. Journal of Agronomy and Crop Science, 171: 138-141. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1993.tb00123.x>
- Alvarado Capó, Y. (1998). *Contaminación microbiana en el cultivo in vitro de las plantas*. En J. N. Pérez Ponce (Ed.), *Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología* (Vol. 1, pp. 81-104). Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- Bermejo, J. E., & Leon, J. (1994). *Neglected crops, 1492 from a different perspective*. FAO
- Blay, E. T., Offei, S. K., Danquah, E. Y., Amoatey, H. A., & Asare, E. (2004). *Improvement of cocoyam (Xanthosoma sagittifolium) using gamma irradiation and tissue culture*. En FAO & AIEA (Eds.), *Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques* (pp. 127-130).
- Corea Narváez Heeidy Guadalupe. (2007). *Inducción, multiplicación de callos, regeneración de plantas y variación somaclonal de las vitroplantas en cinco cultivares de quequisque (Xanthosoma spp)* [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria]. <https://core.ac.uk/download/pdf/35165847.pdf>
- Fadli, N., Syarif, Z., Satria, B., & Akhir, N. (2018). *The Effect of Gamma Cobalt-60 Ray Irradiation on Cultivar Growth in Taro White (Xanthosoma Sagittifolium L.)*. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 3(6), 2020-2025. <https://doi.org/10.22161/ijeab/3.6.9>
- Giacometti DC, Leon J. (1994) *Tannia, yautia (Xanthosoma sagittifolium)* In: Hernandez-Bermejo L, Ed. *Neglected Crops 1492 from Different Perspectives*. (pp. 255–258) Food and Agricultural Organization of United the United Nations. (1994) https://books.google.com.ni/books?hl=es&lr=&id=IS5E7s0mcxgC&oi=fnd&pg=PR5&ots=ODxdtaqr7P&sig=7JTtJPafm8UmANPjk59eyhUC8M&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Guerrero Rivas, A. T., y Florián Najeres, L. I. (2008). *Estudio del proceso de floración inducido por el ácido giberelico (AG3) en nueve cultivares de quequisque (Xanthosoma spp.) en Nicaragua* [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria]. CENIDA UNA <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf01g934e.pdf>
- Hasim, A. A., Shamsiah, A., & Hussein, S. (2021). *Induced Mutations Using Gamma Ray and Multiplication of Plantlet through Micro Cross Section Culture of Banana (Musa acuminata cv. Berangan)*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 757(1), 10. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012007>
- Ingelbrecht, I., Jankowicz-Cieslak, J., Szurman, M., Till, B. J., y Szarejko, I. (2021). *Mutagénesis química*. En M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, y L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3ra ed., pp. 43-68). FAO y IAEA. www.fao.org/3/i9285es/I9285ES.pdf

- Jankowicz-Cieslak, J., Mba, C., & Till, B. J. (2017). *Mutagenesis for Crop Breeding and Functional Genomics*. En J. Jankowicz-Cieslak, T. H. Tai, J. Kumlehn, & B. J. Till (Eds.), *Biotechnologies for Plant Mutation Breeding* (1ra ed., pp. 3-18). Springer Open.
- Khalil, I. (2018). *Mejoramiento de los cultivos por inducción de mutaciones*. <https://www.iaea.org/sites/default/files/19/06/mutation-breeding-for-crop-improvement-sp.pdf>
- León, J. (2000). *Botánica de los cultivos tropicales* (3ra Ed). Editorial Agroamérica, Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura. <http://repositorio.iica.int/bitstreams/11324/7228/1/BVE18040317e.pdf>
- Lagoda, P. J. L. (2009). *Networking and Fostering of Cooperation in Plant Mutation Genetics and Breeding: Role of the Joint FAO/IAEA Division*. En *Induced plant mutations in the genomics era* (pp. 27-30). FAO and IAEA. <https://www.fao.org/3/i0956e/I0956e.pdf>
- Mairena Palacios, A. E., e Ibarra Escoto, Y. J. (2005). *Estudio de la producción y comercialización del quequisque (Xanthosoma sagittifolium (L) Schott. En el municipio de Nueva Guinea, en el periodo 2000-2004*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/783/1/tnf01m228.pdf>
- Mukhtar Ali Ghanim, A., Spencer-Lopes, M. M., y Thomas, W. (2021). *Mejoramiento por mutaciones de cultivos propagados por semillas: Selección parental, desarrollo de generaciones mutantes, detección de mutaciones, evaluación de mutantes y factores que influyen en el éxito*. En M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, y L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3ra ed., pp. 99-130). FAO y IAEA. www.fao.org/3/i9285es/I9285ES.pdf
- Murillo, R. A., & Mendoza, V. (2004). *Breeding of bitter potato (solanum juzepczukii) through mutation induction and tissue culture techniques*. En *Genetic improvement of underutilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques* (pp. 113-126). FAO/IAEA. https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1426_web.pdf
- Nielen, S., Forster, B. P., y Heslop-Harrison, J. S. (2021). *Efectos del mutágeno en la primera generación después del tratamiento de semillas: Efectos biológicos de los tratamientos de mutación*. En M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, & L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3ra ed., pp. 87-98). FAO y IAEA. <https://doi.org/10.4060/i9285es>
- Novak, F. J., y Brunner, H. (1992). *Fitotecnia: Tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos*. Boletín de la OIEA, 25-33. https://www.iaea.org/sites/default/files/34405682533_es.pdf
- Nurilmala, F., Hutagaol, R. P., Widhyastini, I. M., Widyastuti, U., & Suharsono. (2017). *Somaclonal variation induction of Bogor taro (Colocasia esculenta) by gamma irradiation*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(1), 28-33. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180105>

- Nzietchueng, S. (1983). *La pourriture racinaire du macabo (Xanthosoma Sagittifolium) au Cameroun: I — Symptomatologie et étiologie de la maladie*, 38(4), 321-325. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=9541329>
- Oliva, R., Ballesta, F., Oriola, J., y Clària, J. (2004). *Genética médica* (Edición 2004) (3a ed.). Edicions Universitat Barcelona. https://books.google.es/books?id=9sCJ80bEsRsC&pg=PA52&dq=mutaciones+genicas+cromos%C3%B3micas+gen%C3%B3micas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiFj_nuwqzXAhWEEexoKHXZaArUQ6AEIJAA#v=onepage&q=mutaciones%20genicas%20cromos%C3%B3micas%20gen%C3%B3micas&f=false
- Owusu-Darko, P. G., Paterson, A., & Omenyo, E. L. (2014). *Cocoyam (corms and cormels)—An underexploited food and feed resource*. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 03(01), 22-29. <https://doi.org/10.4236/jacen.2014.31004>
- Pabón Calderón, L. A. (2011). *Inducción de mutaciones mediante radiaciones gamma de (Passiflora edulis Simvar. Edulis)* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8642>
- Pérez Ponce, Juan. N. (1998). *Mutagénesis in vitro*. En J. N. Pérez Ponce (Ed.), *Propagación y Mejora Genética de plantas por Biotecnología* (Vol. 1, pp. 297-326). Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- Rayo García, M. I. (2021). *Efecto de irradiación con rayos X como fuente de inducción de mutaciones en plantas in vitro de quequisque (Xanthosoma sagittifolium y X. violaceum L. Schott)* [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria]. <https://doi.org/10.1/tnf30r277.pdf>
- Reyes Castro, G. C., Corea Narváez, H. G., y Guatemala Ortega, T. V. (2013). *Guía de manejo agronómico del quequisque en Nicaragua*. ProPemce. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01R457g.pdf>
- Saborío, F., Umaña, G., Solano, W., Amador, P., Muños, G., Valerín, A. T., Torres, S., & Valverde, R. (2004). *Induction of genetic variation in Xanthosoma spp.* En FAO & AIEA (Eds.), *Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques* (pp. 143-154).
- Sarsu, F., Spencer-Lopes, M. M., Sangwan, R., & Penna, S. (2018). *Specific techniques for increasing efficiency of mutation breeding*. In M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, & L. Jankuloski (Eds.), *Manual on mutation breeding* (3ra ed., pp. 171-220). FAO y IAEA. <http://www.fao.org/3/I9285EN/i9285en.pdf>
- Sarsu, F., Spencer-Lopes, M. M., Sangwan, R., Y Penna, S. (2021a). *Métodos in vitro en el cambio del mejoramiento de plantas por mutaciones*. En M. M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, & L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (Tercera, pp. 171-189). FAO.
- Sarsu, F., Penna, S., Kunter, B., y Ibrahim, R. (2021b). *Mejoramiento por mutaciones de cultivos propagados vegetativamente*. En M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, y L. Jankuloski (Eds.), *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3ra ed., pp. 131-146). FAO y AIEA. www.fao.org/3/i9285es/I9285ES.pdf

- Soto Acosta, J. (1983). *Revisión de literatura sobre el cultivo de tiquisque Xanthosoma spp Schott.* CATIE. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A6490e/A6490e.pdf>
- Spencer-Lopes, M. M., Forster, B. P., & Jankuloski, L. (2018a) *Manual on mutation breeding* (3ra ed., p.1). FAO & IAEA. <http://www.fao.org/3/I9285EN/i9285en.pdf>
- Spencer-Lopes, M.M., Jankuloski, L., Mukhtar Ali Ghanim, A., Matijevic, M., & Kodym, A. (2018b). *Physical Mutagenesis*. Spencer-Lopes, M., Forster, B. P., & Jankuloski, L. (Eds.). *Manual on mutation breeding* (3ra ed.). FAO and IAEA www.fao.org/3/i9285es/I9285ES.pdf
- Spencer-Lopes, M.M., Jankuloski, L., Mukhtar Ali Ghanim, A., Matijevic, M., y Kodym, A. (2021). *Mutagenesis física*. Spencer-Lopes, M., Forster, B. P., y Jankuloski, L. (Eds.). *Manual de mejoramiento por mutaciones* (3rd ed.). FAO and IAEA www.fao.org/3/i9285es/I9285ES.pdf
- Steiner, K. G. (1981). *A root rot of macabo (Xanthosoma sp.) in Cameroun, associated with Pythium myriotylum / Eine Wurzelfäule des Macabo (Xanthosoma sp.) in Kamerun, gebunden an das Auftreten von Pythium myriotylum.* Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection, 88(10), 608-613. <https://www.jstor.org/stable/43216229>
- Sukamto, L. A. (2004). Development of early Maturing and leaf blight resistant taro (*Colocasia esculenta* (L.)) with improved taste. In *Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques*. FAO/IAEA. http://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/te_1426_web.pdf

IX. ANEXOS

Anexo 1. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M₁V₃ – M₁V₇ de plantas de quequisque Lila *in vitro* XV5 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M ₁ V ₃	M ₁ V ₄	M ₁ V ₅	M ₁ V ₆	M ₁ V ₇
0	2, 6, 32, 33, 36				
1 – 2	3, 8, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 23, 24, 25, 26, 29, 34, 35, 40, 41, 49, 54, 50, 53, 57, 81, 86, 89, 94, 95, 101, 105, 108, 109, 110, 111, 114, 116, 124	1, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 29, 41, 49, 50, 53, 68, 51	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 26, 29, 33, 34, 36, 49, 50, 51, 53, 54, 110	9, 14, 16, 18, 23, 24, 68, 86, 89, 110, 111	16
3 – 4	1, 4, 7, 9, 13, 14, 19, 20, 21, 51	26, 32, 33, 34, 54, 86, 110, 111	68, 86, 111	3, 7, 8, 10, 13, 25, 26, 51, 53	8, 9, 13, 25, 51
5 – 6		36, 89	89	12	3, 7, 10, 12, 23, 26, 53
7					14
8		2			
9		24			
33			24		
Tasa de multiplicación promedio	1.49	2.09	2.30	2.47	4.69

Anexo 2. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M₁V₃ – M₁V₇ de plantas de quequisque Lila *in vitro* XV7 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M ₁ V ₃	M ₁ V ₄	M ₁ V ₅	M ₁ V ₆	M ₁ V ₇
0	27				
1 - 2	1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 20, 23, 24, 25, 26, 33, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 53, 61, 93, 96, 100, 106, 110, 112, 115, 120, 122, 125	2, 6, 8, 12, 13, 17, 20, 23, 26, 29, 38, 39, 53, 54, 55, 60, 61, 77, 92, 61, 77, 92, 93, 100, 101, 107, 110, 111, 114, 115, 116, 118, 120, 121, 122, 123, 124, 125	1, 7, 8, 13, 17, 35, 53, 54, 55, 60, 61, 77, 92, 93, 101, 106, 107, 110, 114, 116, 118, 120, 121, 122, 125	26, 54	2, 7, 8, 10, 12, 13, 20, 23, 26, 27, 60, 121
3 - 4	3, 11, 13, 17, 19, 30, 36, 54, 101, 111, 114	7, 10, 33, 34, 35, 36, 96, 106	2, 6, 10, 12, 20, 23, 26, 27	6, 7, 8, 12, 13, 17, 20, 23, 27, 55, 101, 106, 107, 110, 118, 120, 125	1, 6, 17, 55, 107
5 - 6	29, 60, 77, 78, 92, 116, 118, 124	1, 11		1, 10, 53, 60, 61, 121	53, 101, 106, 110, 118, 120, 125
7 - 8	107, 121, 123	40, 41			
9	55				
10				2	
12		27			
14			11		
30				11	
40					11
Tasa de multiplicación promedio	2.51	2.12	2.21	4.14	3.31

Anexo 3. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M₁V₃ – M₁V₇ de plantas de quequisque Lila *in vitro* XV9 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M₁V₃	M₁V₄	M₁V₅	M₁V₆	M₁V₇
0			30, 51, 53, 64, 71		
1 - 2	1, 2, 4, 9, 12, 16, 18, 21, 27, 33, 34, 36, 39, 41, 46, 49, 51, 54, 64, 66, 67, 68, 70, 71	4, 9, 12, 21, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 57, 64, 66, 67, 68, 70, 71, 77	12, 13, 23, 25, 34, 35, 38, 39, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 50, 57, 66, 67, 68, 70	23, 39, 41, 53	12, 23, 28, 44, 45, 46, 48, 53, 57, 66, 70
3 - 4	3, 13, 14, 20, 25, 29, 30, 31, 43, 45, 47, 50, 53, 77	3, 13	28, 31, 33, 40	13, 28, 38, 40, 48, 57, 64, 66, 71	40, 47
5 - 6	23, 28, 37, 38, 40, 44, 48			44, 45, 46, 47, 70	13, 39, 41
7					25
8	57	23		12, 25	
11	35				
Tasa de multiplicación promedio	2.94	1.38	1.38	4.00	2.90

Anexo 4. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M_1V_3 – M_1V_7 de plantas de quequisque Blanco *in vitro* de XS7 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M_1V_3	M_1V_4	M_1V_5	M_1V_6	M_1V_7
0			13	1	
1 – 2	4, 6, 11, 17, 21, 24	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 20, 24, 25	1, 2, 7, 8, 12, 14, 15, 17, 20, 25	8, 17, 25	15, 25
3 – 4	8, 10, 19, 20, 22, 23	13, 17, 18, 19, 21	16	2, 20	8, 16
5 – 6	3, 7, 9, 14, 16, 18, 25			7, 13, 15, 16	2, 12, 13
7 – 8	2, 13			12	
11	1, 5				
12	12				
22	15				
Tasa de multiplicación promedio	5.58	1.91	1.12	3.59	3.60

Anexo 5. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M₁V₃ – M₁V₇ de plantas de quequisque Blanco *in vitro* XS9 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M₁V₃	M₁V₄	M₁V₅	M₁V₆	M₁V₇
1-2	13	6, 8, 10, 14, 25	8, 10, 12, 13, 14, 19, 23, 25	10, 13, 14, 23	
3 - 4	10, 12, 14, 25	13, 19, 23		8, 12, 19, 25	13, 19, 25
5 - 6	6, 8	12			
7	19				8
10	23				
Tasa de multiplicación promedio	4.76	2.76	1.14	2.28	4.28

Anexo 6. Líneas y tasa de multiplicación del número de brotes producidos en cada etapa M₁V₃ – M₁V₇ de plantas de quequisque Blanco *in vitro* XS11 irradiadas con rayos X

Rango del número de brotes producidos	M₁V₃	M₁V₄	M₁V₅	M₁V₆	M₁V₇
1 – 2	4, 5, 6, 10, 12, 25, 27, 30, 33	1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 13, 16, 20, 25, 26, 28, 30, 31, 32, 33	2, 5, 6, 12, 20, 26, 28, 30, 31, 33	4, 15, 28, 33	4, 12, 16, 25, 27, 28, 31
3 – 4	1, 2, 7, 15, 20, 26, 32	27	4, 15, 16, 25	7, 12, 16, 27, 31	7
5	28, 31	12	7		
7		15	27		
9	9, 16				
10				25	
11	13				
Tasa de multiplicación promedio	3.54	2.01	2.60	3.40	1.50

