



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO

CENTRO DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN AGRONOMÍA

MENCIÓN EN PROTECCIÓN VEGETAL

PROYECTO FINAL DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

“MUTAGENESIS INDUCIDA EN PASTO SABOYA (*Panicum maximum* Jacq.) CON ETIL-METANOSULFONATO E INCIDENCIA DE SALIVAZO (*Mahanarva andígena*) Jacobi (Homóptera, Cercopidae), BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO”

MAESTRANTE:

ING. AGR. BOLÍVAR AUGUSTO ALVARADO ÁLVAREZ

TUTOR:

DR. HUGO JAVIER ALVARADO ÁLVAREZ, M. Sc.

CO-TUTOR:

DR. JUAN CARLOS GÓMEZ VILLALBA, M. Sc.

BABAHOYO-LOS RÍOS-ECUADOR

2022

DEDICATORIA

A Dios, por darme la voluntad y sabiduría para siempre seguir adelante, a mi familia y en especial a mi esposa e hijas, que son mis mártires y motivación para el esfuerzo ejecutado en este trabajo.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la sabiduría y fortaleza, a mis padres, quienes siempre confiaron en mí y gracias a su empuje y dedicación pude culminar este trabajo de investigación.

Las investigaciones, resultados, conclusiones y recomendaciones del presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad del autor:



Firmado electrónicamente por:
BOLIVAR AUGUSTO
ALVARADO ALVAREZ

Bolívar Augusto Alvarado Álvarez

Dr. Hugo Javier Alvarado Álvarez, Msc.

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO, haber asesorado esta tesis elaborada por el estudiante **Bolívar Augusto Alvarado Álvarez**; tesis de investigación previo a la obtención del título de Magister en Protección Vegetal, Mención Agronomía titulada: “**Mutagenesis inducida en pasto Saboya (*Panicum maximum* Jacq.) con etil – metanosulfonato e incidencia del Salivazo (*Mahanarva andígena*) Jacobi (Homóptera, Cercopidae), bajo condiciones de invernadero**” durante el periodo lectivo 2020 - 2021, la cual está sujeta a las normas y metodología dispuesta en el reglamento de titulación de Posgrado.

DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

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



Firmado electrónicamente por:
**HUGO JAVIER
ALVARADO
ALVAREZ**

DIRECTOR DE TESIS

INFORME FINAL DE COINCIDENCIAS APLICADO AL SISTEMA URKUND

Informe del sistema Urkund

El suscrito Dr. Hugo Javier Alvarado Álvarez, M. Sc, docente de la Universidad Técnica de Babahoyo, certifico que la tesis de maestría titulada “MUTAGENESIS INDUCIDA EN PASTO SABOYA (*Panicum maximum* Jacq.) CON ETIL-METANOSULFONATO E INCIDENCIA DE SALIVAZO (*Mahanarva* andígena) Jacobi (Homóptera, Cercopidae), BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO”, perteneciente al sr. Ing. Bolívar Augusto Alvarado Áñvarez, maestrante del programa de maestría en Agronomía, mención en Protección Vegetal, fue sometido a un análisis en la plataforma Urkund, donde presentó un 98% de originalidad, y un 2% de similitud en otros trabajos de publicados, verificando las correcciones pertinentes y considerando el reglamento de titulación de posgrado de la Universidad Técnica de Babahoyo.

3/3/22, 14:21 D129354952 - BOLÍVAR AUGUSTO ALVARADO ÁLVAREZ.docx - Urkund

[Lista de fuentes](#) Bloques ➔ Abrir sesión

Documento	BOLÍVAR AUGUSTO ALVARADO ÁLVAREZ.docx (D129354952)	⊕
Presentado	2022-03-03 13:36 (-05:00)	⊕ >
Presentado por	Adela Veloz (aveloz@utb.edu.ec)	⊕
Recibido	aveloz.utb@analysis.arkund.com	⊕
Mensaje	URKUND ALVARADO ALVAREZ Mostrar el mensaje completo	⊕
	2% de estas 36 páginas, se componen de texto presente en 3 fuentes.	⊕
		⊕

📊 🔄 🔍 📄 ⬆ ⬅ ➡ 🔄 Reiniciar 🔄 Compartir ?

Dr. Hugo Javier Alvarado Álvarez, M. Sc



Firmado digitalmente por:
**HUGO JAVIER
ALVARADO
ÁLVAREZ**

Docente Asesor

Índice General

Introducción	1
Capítulo I. Contextualización del Problema	3
1.1. Formulación de problema	3
1.3. Objetivos	4
Capítulo II. Marco Teórico	5
2.1. El Cultivo de pasto Saboya	5
2.1.1. Características generales del cultivo	5
2.1.2. Clasificación botánica de <i>P. maximum</i>	5
2.1.3. Morfología del pasto Saboya.....	6
2.1.4. Pasto Saboya en el Ecuador	7
2.2. Mutagénesis	8
2.3. Múgatenos	10
2.3.1. Etil-metanosulfonato.....	10
2.3.2. Mutantes Inducidas mediante EMS Etil – metanosulfonato.....	10
2.3.3. Mutágenos	11
2.4. Descripción de la plaga Salivazo.....	12
2.4.1. Taxonomía de la plaga <i>M. andígena</i>	12
2.4.2. Características generales de la plaga	12
2.4.3. Descripción de la plaga.....	13
2.4.4. Ciclo de vida	13
Capítulo III. Metodología.....	15
3.1. Diseño de la investigación	15
3.1.1. Tipo de investigación.....	15
3.1.2. Factores en estudio	15
3.1.3. Diseño de los tratamientos	16
3.2. Técnicas e instrumentos de recolección de muestras	16
3.3. Unidad experimental.....	17
3.4. Diseño experimental	17
3.5. Variables registradas	17
3.5.1. Altura de la planta (m)	17
3.5.2. Número de hojas por planta	17
3.5.3. Diámetro del macollo	18
3.5.4. Largo de la hoja	18
3.5.5. Ancho de la hoja.....	18

3.5.6. Número de ninfas de salivazo	18
3.6. Análisis estadístico	19
3.7. Manejo del experimento.....	20
3.7.1. Preparación de las semillas y de la plaga	20
3.7.2. Preparación de terreno y sustrato	21
3.7.3. Riego.....	21
3.7.4. Control de plagas y enfermedades.....	21
Capítulo IV. Resultados y discusión.....	22
4.1. Análisis descriptivo.....	22
4.1.1. Altura de planta.....	22
4.1.2. Número de hojas	25
4.1.3. Diámetro del macollo	25
4.1.4. Longitud de hoja.....	26
4.1.5. Ancho de hoja	27
4.1.6. Número final de ninfas por planta	28
4.1.7. Vigor del crecimiento vegetal	30
4.1.8. Número de Salivazos por planta	30
4.2. Análisis de varianza	32
4.3. Análisis de correlaciones	35
4.4. Análisis de regresión	36
Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones.....	39
5.1. Conclusiones.....	39
5.2. Recomendaciones	39
Capítulo VI. Bibliografía.....	40
ANEXO 1: Registro fotográfico de la investigación en pasto Saboya	45

Índice de Tablas

Tabla		Página
1	Factores y niveles en estudio.....	16
2	Tratamientos en estudio.....	16
3	Esquema del análisis de varianza en el diseño completamente al azar (DCA).....	17
4	Escala de medición de severidad del Salivazo.....	18
5	Escala para determinar vigor.....	19
6	Escala de medición de severidad del Salivazo	19
7	Estadísticos a los 95 días después de la siembra de las variables altura de planta (AP), diámetro de macollo (DM), número de hojas/planta (NHP), largo de hoja (LH), ancho de hoja (AH), número de ninfas (NN) e incremento de ninfas (INN) de salivazo en plantas de saboya tratadas con EMS.....	23
8	Promedios de altura de las plantas (m) de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.....	24
9	Promedios de número de hojas de las plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.....	25
10	Promedios de diámetro de macollo (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.....	26
11	Promedios de longitud de hoja (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.....	27
12	Promedios de ancho de la hoja (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.....	28
13	Valores máximos, mínimos y promedios del número de ninfas observadas a los 95 días después de la siembra, en pasto saboya en relación al tiempo de impregnación y concentraciones de EMS.....	29
14	Comportamiento fenotípico a los 95 días después de la siembra en pasto saboya y evaluación del vigor vegetal (VV) a los 115 días en función de los factores y niveles en estudio.....	30
15	Número de Salivazos a los 60 días después de la inoculación, en <i>Panicum maximum</i> , mediante etil-metanosulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andígena bajo condiciones de invernadero	31
16	Severidad de la plaga (salivazo) por plantas a los 60 días después de la inoculación, en <i>Panicum maximum</i> mediante etil-metanosulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andígena bajo condiciones de invernadero.....	32
17	Análisis de varianza de la altura de las plantas de saboya a los 95 días de la siembra.....	33
18	Análisis de varianza de la variable número final de ninfas en las plantas de saboya a los 95 días de la siembra.....	33
19	Medias y errores típicos de las variables altura de planta y número final de ninfas en pasto saboya tratada con EMS.....	34
20	Altura de planta en función del tiempo de impregnación EMS a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.....	34
21	Altura de planta en función de las concentraciones de EMS a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.....	34
22	Coefficientes de correlación momento producto de Pearson entre variables morfológicas y sanitarias en estudio del salivazo en pasto saboya.....	35

Índice de Figuras

Figura		Página
1	Efecto de las concentraciones de EMS sobre la altura de las plantas de saboya en mediciones de 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.....	24
2	Número promedio de ninfas en función de la concentración de EMS y los tiempos de impregnación a los 95 días después de la siembra.....	29
3	Relación de segundo orden entre las concentraciones de EMS y la altura de planta del pasto saboya.....	37
4	Relación entre concentraciones de EMS y número final de ninfas/planta.....	38

Resumen

La saboya es pasto de importancia económica que es atacada por plagas insectiles como el salivazo, donde una alternativa la inducción de mutaciones usando sustancias químicas como etil-metanosulfonato (EMS) y la selección individual de plantas con potencial forrajero. En esta perspectiva se realizó un estudio con el objetivo: “Determinar la incidencia del Salivazo en pasto Saboya mediante mutagénesis inducida de etil-meta sulfonato, bajo condiciones de invernadero”. Se usó un diseño completamente al azar de 9 tratamientos con cinco repeticiones, en arreglo factorial A x B +1. El factor A: tiempos de impregnación de las semillas: 24 y 48 horas. El factor B: concentraciones EMS: 0,25%, 050%, 0,75% y 1,00%, además del testigo. Las unidades experimentales fueron de 20 plantas, que se evaluaron en distintos momentos. Los resultados permitieron determinar qué las características morfológicas del pasto saboya tienen un comportamiento diferenciado como respuesta a la impregnación de EMS, sin embargo, todas están correlacionadas ($p < 0,05$). Los tiempos de impregnación no tuvieron efecto sobre el comportamiento agronómico. La concentración óptima de EMS es 0,48. Un incremento en la concentración de EMS del 0,1% reduce el número de ninfas, en 2 ninfas/planta. Las concentraciones de 0,75% y 1,00%, independientemente del tiempo de impregnación, fueron efectivos para la reducción del número de ninfas. La población de ninfas de salivazo tiende a incrementarse en las plantas testigo, deduciéndose que la plaga pasa por los diferentes estadios y que la reducción de ninfas de debe al efecto de EMS

Palabras claves: Mutagénicos, mutaciones, mejoramiento genético, potencial genético.

Abstract

The savoy is an economically important grass that is attacked by insect pests such as the spittlebug, where an alternative is the induction of mutations using chemical substances such as ethyl-methanesulfonate (EMS) and the individual selection of plants with forage potential. In this perspective, a study was carried out with the objective: "Determine the incidence of *Salivazo* in Savoy grass by induced mutagenesis of ethyl-meta sulfonate, under greenhouse conditions". A completely randomized design of 9 treatments with five repetitions was used, in a factorial arrangement A x B +1. Factor A: seed impregnation times: 24 and 48 hours. Factor B: EMS concentrations: 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.00%, in addition to the control. The experimental units were 20 plants, which were evaluated at different times. The results made it possible to determine which morphological characteristics of savoy grass have a differentiated behavior in response to EMS impregnation, however, they are all correlated ($p < 0.05$). The impregnation time had no effect on the agronomic behavior. The optimal concentration of EMS is 0.48. An increase in EMS concentration of 0.1% reduces the number of nymphs, by 2 nymphs/plant. The concentrations of 0.75% and 1.00%, regardless of the impregnation times, were effective in reducing the number of nymphs. The population of spittlebug nymphs tends to increase in the control plants, deducing that the pest goes through the different stages and that the reduction of nymphs is due to the effect of EMS

Keywords: Mutagenic agents, mutations, plant breeding, genetic potential.

Introducción

La saboya es pasto de importancia económica, muy extendida en América latina y en el litoral ecuatoriano, principalmente para la alimentación del ganado bovino. La saboya es atacada intensamente por varias plagas insectiles como el salivazo, donde se ha definido como una alternativa la inducción de mutaciones usando sustancias químicas como etilmetanosulfonato (EMS) y la selección individual de plantas con potencial forrajero que posean cierta tolerancia a la referida plaga.

Alrededor de 150 millones de hogares en el mundo se dedican a la producción de leche. En la mayoría de países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y su producción contribuye a la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares. La producción de pastos, a nivel global, es fundamental para incrementar los niveles del lácteo que, a su vez, genera ganancias relativamente rápidas para los pequeños, medianos y grandes productores, como fuente de ingresos en efectivo (Franco-Crespo *et al.*, 2019).

La rentabilidad de una explotación ganadera depende de muchos factores, tales como el manejo de la nutrición, ecosistema, genética, sanidad, entre otros. Siendo uno de los principales problemas la mala calidad del alimento suministrado a los animales, especialmente en el subtrópico ecuatoriano y es éste el caso de la ganadería subtropical de las provincias de Imbabura y Carchi (Gómez *et al.*, 2020).

Los componentes principales para mejorar la producción en pastos son: la cantidad de brotes por unidad de superficie y el contenido de materia seca. Los altos rendimientos se dan al optimizar el número de hojas y tallos, mantener verde la masa foliar y lograr un alto nivel de materia seca en las plantas (Perdomo, 2018). Entre los factores que afectan el establecimiento y comportamiento productivo de un pasto, se encuentran: la adaptación al suelo y al clima, la resistencia al pastoreo (consumo y pisoteo) y la resistencia al ataque de diferentes patógenos. Este último factor ha sido el menos estudiado por lo que es importante intervenir. Cabe anotar que mientras las pasturas predominantes en el país están compuestas fundamentalmente por especies naturales, la incidencia de patógenos no tenía mayor importancia, debido a la resistencia natural desarrollada por estas especies.

A medida que se fueron introduciendo nuevas especies mejoradas, se fueron ganando por un lado características productivas, pero fueron perdiendo por otra parte las de resistencia a los diferentes agentes nocivos, trayendo como consecuencia la incidencia de un gran número de enfermedades, algunas de las cuales actualmente no ocasionan pérdidas de importancia

económica, pero cuyos agentes son una amenaza potencial para el futuro, a medida que se va obteniendo material más homogéneo. Esto se está convirtiendo en la actualidad en una causa de gran preocupación ya que los ataques son severos y la resistencia a controles biológicos y químicos son altos (Arce-Pérez y Morón, 2000).

Uno de los principales problemas, según Valle et al. (2018), es el Salivazo (*M. andígena*). Es una plaga importante de la caña de azúcar en varias regiones del país, particularmente en la Cuenca Baja del Río Guayas (Naranjito, Milagro, Bucay), Zaruma, Piñas (El Oro), Puyo (Pastaza) y Nanegalito (Pichincha). Se considera una especie nativa que ataca a pastos y malezas gramíneas, que se han adaptado eficientemente a la caña de azúcar (Castro *et al.*, 2005).

Adicionalmente, la severidad del daño que este insecto provoca, depende del manejo del cultivo, de su estado fenológico y del número de generaciones del insecto que se presenten durante el periodo. El control de esta plaga se ha conceptualizado por medio de un paquete tecnológico basado en una estrategia de manejo integrado, con el objeto de mantener al “Salivazo” por debajo de los niveles de daño económico (Arcos *et al.*, 2018).

Por lo mencionado anteriormente, la presente investigación pretende brindar una alternativa a la producción de pastos y control de Salivazo que está causando un daño muy alto en los pastos de la zona, generando pérdidas económicas a los agricultores.

Capítulo I. Contextualización del Problema

1.1. Formulación de problema

Los impactos de los fitopatógenos en los sistemas agrícolas, el control de enfermedades y las pérdidas económicas causadas por los patógenos son temas de investigación de importancia internacional (Chen & Nen, 2015). En los ecosistemas agrícolas, los patógenos de las plantas no solo afectan negativamente la supervivencia y el crecimiento de las plántulas (Navarro *et al.*, 2012), sino que también reducen la producción y la calidad de los cultivos, lo que resulta en una gran pérdida económica.

La presencia de agentes fitopatógenos en los cultivos de pastos, ha sido uno de los problemas más importantes para la industria ganadera en general, por lo que es indispensable, realizar ensayos e investigaciones para formar híbridos resistentes, con características fenotípicas y genotípicas, que contribuyan al mejoramiento del material.

La siguiente investigación correspondió al estudio del comportamiento y control del ataque de Salivazo (*Mahanarva andigena* (Jacobi) [Homóptera: Cercopidae], en el cultivo de pasto Saboya (*Panicum máximum* Jacq.) utilizando partes vegetativas irradiadas con etilmetanosulfonato, alterando genéticamente su estructura, para que, de esta manera, lograr identificar una posible tolerancia al ataque de la plaga antes mencionada.

Las pérdidas significativas del alimento para el ganado a causa de esta plaga, los altos costos de los plaguicidas y los riesgos sobre la salud de los animales indican que hay susceptibilidad de los genotipos del pasto saboya al salivazo (, siendo el problema central la falta de genotipos con tolerancia a la referida plaga.

1.2. Justificación

La inducción de mutaciones en el pasto saboya, generando variabilidad genética aprovechable en programas de fitomejoramiento podría reducir las pérdidas del alimento para el ganado a causa de esta plaga, evitar el uso de los plaguicidas y reducir los riesgos sobre la salud de los animales.

A través de esta investigación, se estima encontrar solución al problema de control fitosanitario de plagas en el cultivo de pasto Saboya, pues es necesario recalcar que la calidad del material vegetativo para alimento de ganado, representa el 70% de la calidad del mismo,

por lo cual es necesario brindar pastos que tengan resistencia ante el ataque de plagas que merman la producción y productividad por unidad de superficie (Vera *et al.*, 2016) ; por este motivo, este ensayo está basado en el uso de material inducido a mutagénesis, en el cuál han sido alterado su código genético mediante el uso de etil - metanosulfonato, para determinar si es posible crear nuevos individuos con tolerancia a fitopatógenos como el Salivazo.

La investigación se desarrolló con la finalidad de buscar alternativas de mejoramiento genético de pastos que permitan cubrir las necesidades alimenticias del sector agropecuario, Mediante métodos investigativos experimentales, usando material mutagénico inducido.

1.3. Objetivos

General:

Determinar la incidencia del Salivazo (*Mahanarva andígena*), en pasto Saboya (*Panicum maximum*), mediante mutagénesis inducida de etil - metanosulfonato, bajo condiciones de invernadero

Específicos:

- Evaluar el comportamiento agronómico del pasto Saboya sometido a niveles del mutagénico etil - metanosulfonato.
- Estimar niveles de tolerancia del pasto inducido, en respuesta al ataque de Salivazo
- Determinar la presencia de variaciones fenotípicas en plantas de *P. máximo* sometidas al mutagénico etil - metanosulfonato.

Capítulo II. Marco Teórico

2.1. El Cultivo de pasto Saboya

2.1.1. Características generales del cultivo

La práctica de la ganadería bovina a nivel nacional e internacional es una actividad de suma importancia, además de tener un papel fundamental en la economía y en el desarrollo social regional. Por estas razones es pertinente desarrollar una ganadería sustentable, competitiva e igualitaria, en nuestra región. A sí mismo en la actualidad, la ganadería es un negocio que se tiene como actividad secundaria (tenedores de ganado) o por herencia familiar, donde los métodos de explotación han sido siempre tradicionales, por tales razones ha dejado de ser rentable. Solo las personas que cuentan con grandes extensiones de tierra pueden vivir con comodidad de la ganadería (Gómez *et al.*, 2020). El pasto saboya, al igual que el maíz y la caña de azúcar son plantas clasificadas como C₄ que se definen por la ruta metabólica que forma parte de la evolución de las plantas para reducir la foto respiración, por lo tanto, tienen mayor eficiencia en el aprovechamiento del agua (Pérez, 2005).

Según Arcos *et al.* (2018), la producción de pastos y forrajes constituye una parte fundamental en los planes de desarrollo y explotación agrícola de una empresa en la cual se incluye ganado. Cada día la demanda de carne y leche y sus derivados es más fuerte; estos productos dependen para su obtención, en alto grado de los forrajes. Los pastos tienen un esencial rol en la provisión del mayor material crudo para la producción, formación y levante de ganado. La carne y la leche se obtienen casi exclusivamente a partir de los pastos; aún la producción de huevos puede hacerse más económica dejando que las aves obtengan aproximadamente el 15% de sus raciones en forma de pasto verde.

2.1.2. Clasificación botánica de *P. maximum*

La clasificación botánica de saboya, de acuerdo a Ricardo (2003), se detalla a continuación:

Nombre Científico: *Panicum maximum*

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Género: Panicum

Especie: Maximum

Autor Epíteto Específico: Jacq.

2.1.3. Morfología del pasto Saboya

La saboya es una planta perenne de crecimiento amacollado o en matojos, que puede alcanzar de 1,60 a 3 metros de altura y de 1 a 1,5 metros de diámetro del macollo (Gómez *et al.*, 2020). Tiene un crecimiento recto al inicio de su crecimiento, posteriormente crece lateralmente al desarrollarse nuevos macollos. Los tallos son fibrosos y se engrosan con el desarrollo. Presentan hojas divididas en lámina y vaina que envuelve al tallo, unidas por un apéndice membranoso llamado lígula. Están dispuestas en dos hileras sobre el tallo, ascendentes y planas, tienen venación paralela, alcanzan de 0,30 a 0,90 m de longitud y de 10 a 30 mm de ancho y están cubiertas por vellosidades (Apráez *et al.*, 2019), con mucha similitud al pasto janeiro (González *et al.* 2021).

Muchas de los pastos cultivados son susceptibles al ataque insectos plagas, que afectan el rendimiento y ocasionan pérdidas económicas. Entre los principales insectos se encuentra la saliva, salivita, cochinilla, chinchilla (*Mahanarva andigena* (Jacobi) [Homóptera: Cercopidae]. Esta plaga afecta a todas las brachiarias, maíz, caña, gordura, imperial, alemán, Pangola, guinea, estrella y otros. La ninfa extrae la savia de las raíces y del tallo, tiene el aspecto de saliva o espuma. El adulto se alimenta de la savia de la parte superior de las hojas al mismo tiempo que inyecta sustancias tóxicas a la planta, causando amarillamiento y marchitez, su tamaño oscila entre 7 a 8 mm Otro insecto de importancia es el gusano cogollero, gusano ejército, los cuales se alimenta de los brotes tiernos y los cogollos de los pastos, cuyo tamaño oscila entre 35 a 40 mm (Alcívar *et al.*, 2020).

El pasto saboya se reproduce tanto vegetativamente como a través de semillas. Su reproducción sexual se limita a un 3% aproximadamente, mediante polinización cruzada o autopolinización y se ve facilitada por el agua, viento, presencia de animales y aves. Para el establecimiento se requieren aproximadamente de 4 a 10 kg de semillas por hectárea y mediante siembra en surcos o al voleo, dependiendo del fin de la plantación (Gómez *et al.*, 2020). La inflorescencia es una panícula en forma de racimo de entre 0,20 a 0,60 m de largo, compuesta por muchas espiguillas pediceladas y flores pequeñas recubiertas por una bráctea. El fruto es una cariósida o grano generalmente de baja germinación y baja calidad debido

a la presencia de dormancia, por lo que la germinación promedio es de un 10% (Gonzales *et al.*, 2021).

Esta dormancia es el resultado de la presencia de embriones inmaduros, impermeabilidad de la cubierta, presencia de inhibidores y restricciones mecánicas que impiden el desarrollo del embrión y de la raíz. Las semillas aparecen luego de 28 a 36 días después de la aparición de las inflorescencias y fácilmente se desprenden de la panícula, disminuyendo la producción de semillas por pérdida de material. Cuenta con un sistema radicular denso y fibroso en forma de rizoma rastro que le permite soportar condiciones adversas.

2.1.4. Pasto Saboya en el Ecuador

El ensilaje es un proceso principalmente empleado en países desarrollados; se estima que 200 millones de toneladas de materia seca son ensilados en el mundo anualmente. En algunos lugares del mundo, la producción de ensilaje aporta de 10 a 25% de los alimentos para rumiantes y representa el 2% de la oferta de alimentos suplementarios, como promedio mundial (Barrera *et al.*, 2017). El pasto Saboya es el más abundante en la Costa ecuatoriana y representa más del 80% de los pastos llamados artificiales; esta gramínea se adapta a condiciones climatológicas diversas, es resistente al pisoteo y a la sequía, tiene un elevado porcentaje de nutrientes, es apetecida por el ganado y responde bien a cualquier mejora en su manejo, sin embargo presenta limitaciones para ser ensilado por lo que deben optar medidas como el uso de aditivos como cáscara de frutas tropicales (Álvarez *et al.*, 2017).

Según la encuesta de superficie y producción agropecuaria (ESPAC) del año 2018, en Ecuador se cultivaron un total de 2.382.448 ha, siendo el pasto Saboya el más usado, pues ocupó el 42,9 % de la superficie total plantada a nivel nacional, sobre todo en la Costa y en menor cantidad en la región oriental. Esta variedad de pasto puede ser ensilado y está al alcance de pequeños, medianos y grandes productores, haciendo posible su conservación sin necesidad de invertir en nuevos pastos (Derichs *et al.*, 2021).

Las zonas tropicales del país tienen entre sus pastos de mayor cultivo al pasto Saboya, que responden de buena manera a las condiciones medio ambientales, a las exigencias del pastoreo y producen una gran cantidad de materia verde; tal es el caso que en el año 2014 según el INEC (2017), se registraron 1`067.390 ha de pasto Saboya, en la región costa, siendo Manabí la provincia que lidera este cultivo con 817700 ha; es decir aproximadamente el 33,41% de la extensión nacional (Macías *et al.*, 2019).

2.2. Mutagénesis

Existe una amplia gama de factores ambientales que afectan constantemente la vida de las plantas. Se sabe que estos factores perturbando el crecimiento, el desarrollo, la reproducción y la productividad general de los cultivos. Los factores ambientales se clasifican ampliamente en dos grupos: bióticos y abióticos. El factor biótico comprende todos los patógenos y parásitos de plantas como hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos y plagas fitófagos, mientras que el agente abiótico incluye señales ambientales como: frío, sequía, calor, salinidad, metales pesados, radiación ultravioleta (UV), inundación (Meena *et al.*, 2017; Rodríguez *et al.*, 2018). El estrés que se produce debido al deterioro/daño por componentes bióticos se considera una amenaza grave para la seguridad alimentaria mundial, ya que provoca pérdidas de cultivos antes y después de la cosecha. También se sabe que estos desencadenan la privación en el contenido de nutrientes que conduce a la muerte de las plantas. En general, las condiciones ambientales circundantes dictan el tipo de estrés biótico que puede afectar a las plantas (Méndez y Vallejo, 2019).

Las plantas poseen mecanismos intrincados para detectar señales externas y permitir respuestas óptimas para sobrevivir en condiciones tan estresantes. Establecen una jerarquía de mecanismos de defensa para contrarrestar el efecto de estas tensiones. Las plantas también poseen mecanismos de reparación de daños para la neutralización del estrés, generalmente seguidos de la eliminación de los tejidos dañados y la restauración del crecimiento de los tejidos. Uno de los mecanismos de defensa más comunes y efectivos en las plantas es la respuesta de hipersensibilidad. La respuesta hipersensible provoca una muerte celular rápida y localizada en el sitio preciso de la infección por patógenos (Wu *et al.*, 2008). Las fitohormonas endógenas de bajo peso molecular como el etileno (ET), el ácido abscísico (ABA), el ácido jasmónico (JA), junto con el ácido salicílico (SA) regulan la respuesta protectora de las plantas a diversos estreses bióticos. Además, estas hormonas juegan un papel dominante durante la infección por patógenos.

En los últimos años, las enfermedades de las plantas se manejan mediante la producción de variedades de plantas mejoradas genéticamente que brindan resistencia a las enfermedades de patógenos y plagas específicas, resistencia a los herbicidas, tolerancia a la sequía y la salinidad o rasgos relacionados con la calidad mejorada, etc. Sin embargo, nuevos patógenos y razas de insectos se producen debido a los cambios en las condiciones climáticas y los factores genéticos, que imponen desafíos a los fitomejoradores para desarrollar la resistencia de los cultivos a los estreses bióticos recién surgidos (Méndez y Vallejo, 2019).

Naturalmente, las plantas mejoran su resistencia a las enfermedades mediante mutaciones genéticas, aunque pueden tardar muchos años en generar esas respuestas. Las mutaciones pueden causar reordenamientos cromosómicos o cambios en los alelos de los genes. Por lo tanto, a principios del siglo XX, los científicos de plantas fueron pioneros en el uso de la mutación inducida para generar una variación genética de alta frecuencia en las plantas. Diversos enfoques físicos (radiación ionizante, rayos gamma, etc.), químicos como ácido de sodio, sulfonato de etil metano (EMS) o sulfato de dietilo (Oladosu *et al.*, 2015), así como enfoques de edición del genoma que incluyen activador de transcripción. Las nucleasas efectoras (TALEN), las nucleasas con dedos de zinc (ZFN) y las repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR) son técnicas de fitomejoramiento aplicadas de manera prominente para inducir mutaciones en las plantas (Hernández-Muñoz, 2019). La mutación inducida genera los cambios genéticos deseados, como la maduración temprana, la resistencia a diversas enfermedades y el semienanismo en las plantas (Barahona y Ayala, 1995).

En genética molecular de plantas, la mutación inducida ha demostrado ser una técnica muy eficiente para el estudio de plantas modelo. Esta estrategia ha sido más aceptable para la introducción de rasgos deseables en varias especies de cultivos como: *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Sesamum indicum*, *Glycine max* (Zambrano *et al.*, 2021) usando varios materiales vegetales como: semillas, polen y callos. Sin embargo, la intensidad y tiempo de tratamiento depende de la especie y material vegetal utilizado. Los enfoques clásicos de fitomejoramiento produjeron muchos cultivos agrícolas de alto rendimiento. Sin embargo, el proceso de domesticación gradual en los cultivos modernos reduce la accesibilidad de la variedad genética para el mejoramiento. Esto hace que el desarrollo de las mejores variedades mediante métodos tradicionales de mejoramiento sea un procedimiento lento (Wolter *et al.*, 2019). Por lo tanto, la reproducción por mutación es un método seguro y asequible; por lo tanto, puede usarse contra organismos genéticamente modificados y métodos clásicos de reproducción.

Hernández-Muñoz *et al.* (2019), han demostrado que es posible el mejoramiento a nivel genético de cultivos, utilizando la radiación gamma, se obtuvieron híbridos con características favorables, presentando tolerancia a la sequía, lo que promete ser un aporte positivo para la industria, utilizando esta técnica en otros tipos de cultivos, para poder mejorar la calidad del producto a utilizar, obteniendo ventajas como la resistencia a la sequía, agentes patógenos o enfermedades.

En la mutagénesis se inducen deleciones o inserciones de fragmentos de material genético, que con el tiempo conducen a cambios en los aminoácidos y a modificaciones tales como la pigmentación de hojas y tallos, o algún tipo de variación tanto a nivel genotípico y/o fenotípico (Chávez *et al.*, 2019)

Según Winkler *et al.* (2020), la mutagénesis inducida mediante etil- metanosulfonato en pastos, aunque estadísticamente no presenten diferencias, sí dan resultados favorables en lo que concierne al mejoramiento genético del pasto rosado (*Melinis repens*) lo que motiva a desarrollar investigaciones en otros cultivos de pastos, como por ejemplo el pasto Saboya.

2.3. Mutágenos

Existen varios mutágenos que pueden introducir variación genómica en las plantas. Estos incluyen agentes físicos, agentes químicos y enfoques de edición de genes.

2.3.1. Etil-metanosulfonato

Según Schütts *et al.* (2017), el etil-metanosulfonato (EMS) es un éster del ácido metanosulfónico con propiedades de mutágeno. Causa mutaciones puntuales por sustitución de nucleótidos, con una tasa de 5×10^{-4} a 5×10^{-2} por gen. Las mutaciones que causa son en su mayoría alquilaciones en las guaninas causando errores en la replicación y transiciones puesto que el ADN polimerasa sustituye la introducción de citosina como complementaria de la guanina, por timina (Barahona y Ayala, 1995). En un segundo ciclo de replicación entonces se encontrará un par de bases complementarias adenina- timina en lugar de citosina-guanina (Benjavad *et al.*, 2012).

2.3.2. Mutantes Inducidas mediante EMS Etil – metanosulfonato

Se han realizado mutaciones con EMS en plantas de brasicáceas de las especies *Arabidopsis thaliana*), según indica Cruz (2017), con la finalidad de determinar la frecuencia de inducción de mutaciones que otorgan tolerancia a herbicidas de los grupos glicinas (glifosato), sulfonilureas (clorosulfuron) e imidazolinonas. Según Rodríguez *et al.* (2018), la inducción de mutaciones con EMS en frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*), donde se encontró tolerancia al virus común del mosaico (BCMV).

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

tratamiento de mutagénesis comprende pasos de remojar alternativamente semillas estériles en un regulador de crecimiento de plantas.

2.3.3. Mutágenos

Existen varios mutágenos que pueden introducir variación genómica en las plantas. Estos incluyen agentes físicos, agentes químicos y enfoques de edición de genes.

Mutágenos físicos

Los mutágenos físicos ionizantes producen radicales libres altamente reactivos que interactúan con el ADN, provocan deleciones cromosómicas, reordenamientos y pérdida de bases que finalmente cambia la estructura y función de las proteínas y, en consecuencia, modifica los fenotipos (Navarro *et al.*, 1988).

Los fitomejoradores han fabricado nuevas combinaciones genéticas de plantas con características mejoradas mediante la aplicación de radiación ionizante. Por ejemplo, el callo tolerante al estrés por salinidad de *Solanum tuberosum* se generó después del tratamiento con neutrones rápidos, además, se han desarrollado valiosos mutantes de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) y garbanzo (*Cicer arietinum*) utilizando rayos gamma e irradiación diferenciada.

Mutágenos Químicos

La mutagénesis química es un método simple y confiable para generar mutaciones con características agronómicas deseadas en las plantas (Muñoz-Chamba, 2019). Los mutágenos químicos como el ácido de sodio, la 1-metil-1-nitrosourea (MNU) y el sulfato de dietilo pueden inducir mutaciones en las plantas. Muchas de estas sustancias químicas ejecutan la clastogénesis (daño cromosómico) en las plantas a través de especies reactivas de oxígeno. Entre todos los mutágenos químicos, los fitomejoradores utilizan principalmente los agentes alquilantes. Las mutaciones impuestas por estas sustancias químicas son el resultado de la sustitución en las bases del ADN, lo que da como resultado un cambio en la secuencia de aminoácidos que modifica aún más la función de la proteína.

La base de datos de la Asociación Internacional de Energía Atómica (OIEA) evidenció que el 80% de las variedades de plantas mutantes se logran mediante mutagénesis química alquilante. Sin embargo, el 64 % de los mutantes se desarrollan a través de EMS, MNU y 1-etil-1-nitrosourea (Oladosu *et al.*, 2015).

Agentes Alquilantes

Los agentes alquilantes reaccionan con los grupos fosfato asociados con las bases de pirimidina y purina del ADN. Los análogos de bases son otra clase de mutágenos adecuados. Estos están estrechamente vinculados con las bases del ADN y pueden integrarse en el ADN en lugar de las bases habituales sin obstaculizar su replicación. Pero esto puede causar errores de emparejamiento en el ADN que conducen a mutaciones. El sulfonato de etilo metano es uno de los mutágenos químicos más potentes con propiedades alquilantes que provoca mutaciones genéticas de alta frecuencia y aberraciones cromosómicas de baja frecuencia. Los agentes alquilantes se componen de un gran número de compuestos como mostazas nitrogenadas, etileniminas, mostazas de azufre, epóxidos, sulfonatos de metano de alquilo, nitrosoureas de alquilo, nitrosoaminas de alquilo, nitrosoamidas de alquilo, sulfatos de alquilo, haluros de alquilo, sulfuros de cloroetilo, fosfatos de alquilo, cloroetilo. Aminas y diazoalcanos (Oladosu *et al.*, 2015).

2.4. Descripción de la plaga Salivazo

2.4.1. Taxonomía de la plaga *M. andígena*

Arce-Pérez y Morón (2000) describen la taxonomía del salivazo como detalla a continuación:

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hemiptera

Familia: Carcopidae

Género: Mahanarva

Especie: *M. andígena*

2.4.2. Características generales de la plaga

Según Arce-Pérez y Morón (2000), las características del salivazo: contribuyen a un grupo de insectos que se caracterizan por que las ninfas o estado inmaduro secretan un líquido viscoso con el cual forman una espuma que recubre su cuerpo y le protege contra el ataque de predadores y otras formas de desecación, las ninfas son aéreas y se ubican debajo de la yagua de la hoja que comienzan a separarse del tallo o bien en el cogollo. Los adultos se localizan frecuentemente más en el cogollo, buscando sitios más frescos y húmedos. El daño que causa este insecto se manifiesta como bandas necróticas longitudinales en las hojas.

Es una de las plagas que genera pérdidas económicas importantes en los cultivos de los pastos tropicales y caña de azúcar de Ecuador. El ataque de salivazo puede llegar a ser

importante y su severidad está relacionada con la especie de insecto, la variedad de caña atacada y las características ambientales en las áreas invadidas. En el Ecuador se estima que la reducción en el contenido de azúcares por el ataque de este insecto puede llegar a 34%, esto depende de la susceptibilidad de las variedades cultivadas (Lastra *et al.*, 2007).

Gómez *et al.* (2020), menciona que durante su ciclo de vida este insecto pasa por tres estados de desarrollo, huevo, ninfa, adulto. La hembra pone los huevos sobre el suelo y sobre las hojas de la caña que han caído al suelo. Entre 20 y 40 días después, salen las ninfas, una por huevo, las cuales suben rápidamente hasta el cogollo de la caña donde comienzan a chupar la sabia para poder alimentarse, al tiempo que se recubren de un líquido viscoso que las protege de la desecación y de los enemigos naturales, las ninfas duran alrededor de 60 días, tiempo durante el cual cambian de piel cuatro veces antes de la última muda en la que llegan al estado adulto.

2.4.3. Descripción de la plaga

Es un insecto de desarrollo incompleto y las ninfas son fáciles de ubicar debido a que secretan una espuma blanca similar a la saliva para protegerse y aislarse (Arcos *et al.*, 2018). Tiene una forma oval, la cabeza es de color oscuro o negro brillante, tiene ojos simples (ocelos) muy cercanos uno del otro, aparte de los ojos compuestos que se encuentran desarrollados. Las antenas están formadas por tres segmentos, el último es muy corto y está provisto de dos cerdas. Las alas anteriores (superiores o primer par de alas) son más gruesas que las inferiores, tienen color café oscuro y en algunas especies las atraviesan dos bandas transversales de color amarillo claro, las alas inferiores son de consistencia membranosa. Las patas son de color oscuro, el abdomen está formado por nueve segmentos visibles, los dos primeros se encuentran reducidos. El promedio de tiempo de vida del adulto es variable dependiendo de la especie. El desarrollo de esta plaga está relacionado con la época lluviosa y calor, incrementándose progresivamente hasta alcanzar los mayores picos poblacionales en los primeros meses de la época seca. Esta condición se ve favorecida en áreas de irrigación de canteros. Durante la época seca, una proporción de los huevos entran en diapausa, permaneciendo en este estado hasta que aparezcan las lluvias o el riego.

2.4.4. Ciclo de vida

En el salivazo, los huevos pueden durar toda época seca sin eclosionar y hacerlo hasta la siguiente época de lluvias, lo que dificulta su manejo, estos generalmente se depositan cerca o entre las raíces; también se pueden ovipositar sobre la superficie del suelo o sobre los estolones y residuos vegetales en el suelo (Gómez, 2020). El período ninfal comprende cinco

instares, con una duración promedio de 8 a 14 días, cada instar. El período ninfal total tiene una duración de 51 días en promedio. Las ninfas recién emergidas o de primer instar tienen una longitud, en promedio, de 1 mm y son de color amarillo a crema, con un punto naranja-rojizo muy notorio, situado entre el 5° y 8° segmento abdominal a cada lado del abdomen y ojos rudimentarios de color rojo (Castro *et al.*, 2005).

En el segundo estadio las ninfas de color amarillo conservan las notorias manchas rojo anaranjadas. Sus alas vestigiales se distinguen al final del estadio cubriendo la mitad del primer segmento abdominal. La cabeza se oscurece un poco al igual que la parte dorsal del tórax. Su abdomen es abultado por la alimentación y la masa espumosa que la protege, es también de mayor tamaño, según la cantidad de humedad existente en el medio en que se desarrolla (Lastra *et al.*, 2007). Durante el tercer estadio, las ninfas tienen una tonalidad cremosa a verdosa y el color de la cabeza y la parte dorsal del tórax de tonalidad grisácea o café-amarillenta, contrastando con la coloración del cuerpo. Las alas son más desarrolladas, alcanzando la mitad del segundo segmento abdominal, variando de blanco a amarillento.

En el cuarto estadio, las ninfas no muestran cambios apreciables respecto del tercer estadio, lo que destaca es el aumento de tamaño del cuerpo y su coloración verdosa. Las manchas rojo-anaranjadas del abdomen se observan difusas y en ocasiones como grupos de manchas pequeñas (Franco-Crespo *et al.*, 2019). El quinto estadio es una etapa de transición entre el estado ninfal y el adulto. La ninfa deja de secretar la saliva y perfecciona la formación de sus alas, y aunque primeramente se observan descoloridas, estas cambian su coloración a través del tiempo. El adulto presenta inicialmente un color blanco y permanece inmóvil durante varias horas dentro de la masa espumosa. Al contacto con el aire, el cuerpo y las alas van adquiriendo lentamente su coloración normal.

Los hábitos son de tipo aéreo, de frente convexa y sobresaliente con dos pequeños ocelos en medio de los ojos compuestos que son más protuberantes. Antenas cortas y setáceas con dos segmentos basales cortos y el resto filiforme. Pronoto grande, hexagonal o trapezoidal (Móstiga y Lozada, 2019). Los colores son variados y pueden vivir entre 15 a 25 días, después de la última muda. A diferencia de las ninfas, los adultos no producen espuma, empleando como mecanismo de defensa su habilidad para saltar, apoyado adicionalmente por el aposematismo y un mecanismo secundario de defensa denominado auto hemorragia (Lastra *et al.*, 2007).

Capítulo III. Metodología

3.1. Diseño de la investigación

El trabajo experimental se ejecutó en la Granja “San Pablo” de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el Km 7½ de la vía Babahoyo-Montalvo, con altitud de 8 metros sobre el nivel del mar y Coordenadas X: -1,799621, - Y: 79,473936. El clima de la localidad es tropical húmedo, con temperatura media de 25,6 °C, la precipitación anual 2 329 mm, humedad relativa 82 % y 987 horas de heliofanía (FACIAG, 2020).

El invernadero de la FACIAG tiene una cobertura de malla de sarán de color negro, para prevenir la entrada directa de los rayos UV y la insolación directa, tiene dos mesones para trabajo y no posee riego automatizado. El riego se realiza manualmente.

El trabajo experimental constó de varias actividades:

- La recolección de semilla de saboya
- La impregnación con la sustancia EMS durante 24 y 48 horas, en distintas dosis: 0,25%, 0,50%, 0,75% y 1,0%.
- Siembra a nivel de invernadero para la determinación del comportamiento de las plantas de saboya con los tratamientos mutagénicos.
- Registro de las variables experimentales
- Análisis e interpretación de resultados

3.1.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo experimental (Nieto, 2018). La finalidad es valorar la causalidad de distintas dosis de un producto mutagénico conocido como etil-metanosulfonato (EMS) sobre el comportamiento del pasto saboya.

3.1.2. Factores en estudio

Se probaron dos factores: Factor A= Tiempo de impregnación y factor B= concentraciones EMS (tabla 1).

Tabla 1.*Factores y niveles en estudio.*

Factores	Niveles en estudio				
	1	2	3	4	5
(A) Tiempos de impregnación (horas)	24 horas	48 horas			
(B) Concentración de EMS (%)	0%	0,25%	0,50%	0,75%	1,0%

3.1.3. Diseño de los tratamientos

El ensayo se realizó en condiciones de invernadero, donde el ambiente se caracteriza por su uniformidad, por lo tanto, se aplicó el diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial AxB+1 que equivale a $2 \times 4 + 1 = 9$ tratamientos (tabla 2).

Tabla 2.*Tratamientos en estudio.*

Tratamientos	Factor A	Factor B	Código
	(tiempo de impregnación,	(Concentración EMS, %)	
1	1 (24 horas)	1 (0,25%)	A1B1
2	1 (24 horas)	2 (0,50%)	A1B2
3	1 (24 horas)	3 (0,75%)	A1B3
4	1 (24 horas)	4 (1,00%)	A1B4
5	2 (48 horas)	1 (0,25%)	A2B1
6	2 (48 horas)	2 (0,50%)	A2B2
7	2 (48 horas)	3 (0,75%)	A2B3
8	2 (48 horas)	4 (1,00%)	A2B4
9	-	-	Testigo

Nota: EMS= etil-metanosulfonato.

3.2. Técnicas e instrumentos de recolección de muestras

En cada una de las unidades experimentales, conformadas por 20 plantas de saboya, se realizaron los registros de datos pertinentes y recolección de muestras, de conformidad a lo planificado, según el comportamiento morfo-agronómico de las plantitas en análisis.

Las mediciones se realizaron, usando las escalas e instrumentos de medición pertinentes, de acuerdo a lo previsto, a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra del pasto.

3.3. Unidad experimental

Cada unidad experimental estuvo conformada por 20 plantas de saboya. Esto equivale a un total de 540 plantas de saboya, que resultan de los 9 tratamientos x 20 plantas por unidad experimental con cinco repeticiones. Por lo tanto, el experimento, de 9 tratamientos con tres repeticiones significa un total de 45 unidades experimentales.

3.4. Diseño experimental

Para el análisis de los resultados se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), en arreglo factorial AxB+1 (tabla 3). El factor A= 24 y 48 horas de impregnación. El factor B: 0,25%, 0,50%, 0,75% y 1,0% EMS) +1 (testigo, 0% EMS). Esto equivale a nueve tratamientos con 3 repeticiones.

Tabla 3.

Esquema del análisis de varianza en el diseño completamente al azar (DCA).

Fuentes de variación	Grados de libertad	
Factor A: Tiempo de impregnación	1	
A1 vs A2		(1)
Factor B: Concentraciones de EMS	3	
B1 vs B2		(1)
B2 vs B3		(1)
B3 vs B4		(1)
Interacción AB	3	
Testigo vs resto	1	
Tratamientos		(8)
Error experimental	36	
Total	44	

Nota: Factor A= tiempos de impregnación en horas. Factor B = concentraciones de EMS %

3.5. Variables registradas

3.5.1. Altura de la planta (m)

La altura de planta del pasto Saboya se midió usando una cinta métrica, en centímetros, desde el nudo basal hasta la parte apical de la hoja más alta, en diez plantas/tratamiento, a los 50, 65, 80 y 95 días. El resultado se expresó en metros (m), de acuerdo a recomendaciones de otras investigaciones (Velásquez *et al.*, 2021).

3.5.2. Número de hojas por planta

El número de hojas/planta se realizó mediante conteo directo en 10 plantitas/tratamiento, a los 50, 65, 80 y 95 días, de conformidad con otras recomendaciones (Muñoz *et al.*, 2009).

3.5.3. Diámetro del macollo

El diámetro del tallo se realizó con una cinta métrica, en diez plantas/tratamiento, a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra, expresando el resultado en centímetros, de acuerdo a las recomendaciones de Muñoz *et al.* (2009).

3.5.4. Largo de la hoja

La longitud de la hoja se midió en la tercera hoja, usando una regla graduada en centímetros, según las recomendaciones de Velásquez *et al.* (2021), a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.

3.5.5. Ancho de la hoja

El ancho de la hoja se midió en milímetros, a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra, en diez plantas/tratamiento, en la tercera hoja, usando una regla graduada, siguiendo las recomendaciones de Velásquez *et al.* (2021).

3.5.6. Número de ninfas de salivazo

Para valorar el efecto de los tiempos de impregnación y concentraciones de EMS sobre la sobrevivencia de las ninfas de salivazo (tabla 4), se agregaron 5 ninfas de salivazo/planta (inoculación).

Complementariamente, se evaluó la severidad en plantas de pasto Saboya a los 60 días después de haber sido inoculado, el insecto Salivazo, en cada tratamiento, usando una escala de calificación referida por Cabada *et al.* (2017).

Tabla 1.

Escala de medición de severidad del Salivazo.

Intensidad del daño al cultivo	Individuos vivos	Escala ordinal
Sin daño	0	0
Leve	1	1
Moderado	2-4	2
Alto	4-6	3
Fuerte	6-8	4
Muy fuerte	>8	5

3.5.7. Vigor vegetal

El vigor vegetal se registró a los 115 días después de la siembra, usando una escala ordinal. Se valoró en forma visual todo el conjunto de características morfológicas (altura de la planta, diámetro del tallo, largo de la hoja y número de hojas) y calificó el estado general, usando Escala de Calificación de Vigor establecida por el sistema de evaluación estándar (tabla 5), para arroz por el CIAT (Lamilla, 2017), para lo cual se observaron diez plantas de cada unidad experimental. La escala ordinal usada fue la siguiente:

Tabla 5.
Escala para determinar vigor.

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

Se evaluó la severidad en plantas de pasto Saboya a los 60 días después de haber sido inoculado el insecto Salivazo en cada tratamiento. Para lo cual se utilizaron una escala de calificación que nos permitió definir el grado de deterioro generado por los insectos (tabla 6), para determinar la severidad de la plaga en cultivos se utilizó los descriptores (Cabada *et al.*, 2017).

Tabla 6.
Escala de medición de severidad del Salivazo.

Intensidad del daño al cultivo	Individuos vivos	Escala ordinal
Sin daño	0	0
Leve	1	1
Moderado	2-4	2
Alto	4-6	3
Fuerte	6-8	4
Muy fuerte	>8	5

3.6. Análisis estadístico

El análisis, en el presente estudio, incluyó la estadística descriptiva, el análisis de varianza, el análisis de correlaciones y el de regresión. La estadística descriptiva es el procedimiento

mediante el cual se organiza y describe un conjunto de datos para facilitar la comprensión de la naturaleza de las muestras y de sus estadígrafos, sean de tendencia central o de dispersión. Al integrar a los estadígrafos las probabilidades, entonces, se pueden realizar inferencias estadísticas, que tienen dos objetivos: la estimación de parámetros como μ y las pruebas de hipótesis como el análisis de varianza u otras técnicas.

El análisis de varianza es un procedimiento estadístico que se utiliza para comparar las varianzas de diferentes grupos y separar los efectos causados por las distintas fuentes de variabilidad sobre las características de interés en la investigación cuantitativa, incluido los efectos del error experimental que puede ser medido y cuantificado. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0,05$) y las comparaciones ortogonales, que es la continuación del análisis de varianza, desagregando hasta en dos grupos o tratamientos.

El análisis de correlación momento producto de Pearson es una técnica paramétrica que permite determinar si dos variables están relacionadas o no relacionadas entre sí. El coeficiente de correlación r puede tomar valores entre -1 y $+1$, donde el signo indica si la asociación es directa o inversa.

El análisis de la regresión es un proceso estadístico que se usa para estimar la intensidad de las relaciones entre variables, que puede ser lineal o no lineal, de tipo bivariado, cuando incluye dos variables o multivariado cuando se trata más de dos variables. El coeficiente de determinación R^2 , se usó como prueba de bondad de ajuste.

Para el análisis estadístico se usó el programa INFOSTAT v. 2020 (Di Rienzo *et al.*, 2020), usando varias técnicas descriptivas e inferenciales.

3.7. Manejo del experimento

3.7.1. Preparación de las semillas y de la plaga

Las semillas de pasto saboya, se sembraron bajo condiciones de invernadero. En las plantas, de todas las unidades experimentales, se incorporó la plaga. Luego se realizó una toma de muestras del área que se tomó como referencia al momento de la evaluación, en la que se verificó que la incidencia del insecto sea alta para su control. Los datos obtenidos se midieron en porcentajes (%), tomando como referencia propuestas de otros trabajos (Lastra *et al.*, 2007).

3.7.2. Preparación de terreno y sustrato

Se procedió a hacer una limpieza del terreno y preparación del sustrato para colocar en germinación las semillas de saboya. El sustrato estuvo compuesto de arena, tamo de arroz, ceniza, viruta de madera y tierra amarilla, sobre los cuales se preparó el semillero de saboya. El material vegetal se trasladó al campo experimental para su establecimiento.

El material mutagénico fue proporcionado por el Dr. Juan Carlos Gómez, docente de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Babahoyo.

3.7.3. Riego

Se realizaron los riegos en forma manual, en todas las unidades experimentales, evitando déficit hídricos y excesos de humedad en el cultivo de pasto saboya.

3.7.4. Control de plagas y enfermedades

De acuerdo a las recomendaciones de manejo integrado fitosanitario, se realizaron las prácticas pertinentes en todo el experimento, con excepción del control del salivazo, que fue el objeto del presente estudio, para el cual no se le aplicó ningún tipo de control.

Capítulo IV. Resultados y discusión

El análisis estadístico se enfatizó en el cálculo de las medidas de tendencia central y de dispersión, en una primera parte. Se realizaron los análisis de varianza con la separación de medias mediante la prueba de Tukey y las comparaciones ortogonales. Considerando la alta correlación entre variables morfológicas, se detalló el análisis de varianza de la altura del pasto saboya, a los 95 días después de la siembra. Se realizaron los análisis de correlaciones lineales y de regresión lineal y multivariada, con el propósito de explicar las relaciones entre las variables de mayor interés biológico.

En las variables morfológicas hay una tendencia a mostrar distribución normal, pues la media, mediana y moda tienden a coincidir en el punto central. No se evidenció ese comportamiento en el número de ninfas ni en su incremento, donde se constata una curtosis negativa muy elevada, que significa que tiende a ser platicúrtica. El comportamiento del pasto saboya se analiza con énfasis en la evaluación a los 95 días después de la siembra, así como el número de ninfas final, por planta. La variación relativa (VR) que es por porcentaje de error respecto de la media, es muy adecuada en todas las características morfológicas, tiene 0,88% en largo de hoja y llega a 1,70% en número de hojas/planta, sin embargo, en el número de ninfas y en el incremento supera el 10% de error. Esta situación se explica por el efecto del mutagénico EMS sobre la sobrevivencia de las ninfas. La precisión del experimento, que se basa en la diferencia de 100-VR indica que en las variables morfológicas están adecuadas, mas no en las relacionadas con el número de ninfas que tiende a ser inferior a 90% (tabla 7).

4.1. Análisis descriptivo

4.1.1. Altura de planta

Se considera a la altura de planta como la característica más expresiva del comportamiento agronómico, así como el número de hojas. En la medición a los 50 días después de la siembra del pasto saboya, en el testigo se constató un promedio de 0,43 m, a los 65 días una altura de planta de 0,64 m a los 80 días de 0,99 m y a los 95 días de 1,00 m. Esto significa que el pasto creció 0,57 m en 45 días, que equivale a una tasa de crecimiento de 1,27 cm por día (tabla 8).

Con la concentración de EMS 0,50% e impregnación de 24 y 48 horas a los 95 días después de la siembra, se logró, en el primer caso 1,22 m y en el segundo caso, 1,26 m que equivale a las mejores respuestas en altura de las plantas de saboya.

El efecto sobre la altura de las plantas de saboya, en las mediciones a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra, se destacan las concentraciones de 0,25 y 0,50% EMS (figura 1). Esta respuesta tiene un comportamiento de segundo orden, situación que conlleva a la necesidad de determinar la concentración más adecuada para favorecer el crecimiento en altura de planta, usando el análisis de regresión cuadrática.

Tabla 7.

Análisis Estadístico a los 95 días después de la siembra de las variables altura de planta (AP), diámetro de macollo (DM), número de hojas/planta (NHP), largo de hoja (LH), ancho de hoja (AH), número de ninfas (NN) e incremento de ninfas (INN) de salivazo en plantas de saboya tratadas con EMS.

Estadísticos	AP (m)	DM (mm)	NHP	LH (cm)	AH (cm)	NN	INN
Media	1,13	4,12	10	35,43	1,75	9	5
Mediana	1,15	4,06	10	35,14	1,79	7	2
Moda	1,03	3,76	10	--	1,82	2	0
Varianza de la muestra	0,01	0,14	1,32	4,41	0,03	43	31
Desviación estándar	0,12	0,37	1,15	2,10	0,17	7	6
Error típico	0,02	0,06	0,17	0,31	0,02	1,0	0,8
Coefficiente de variación	10,5	9,0	11,4	5,9	9,5	71,8	107,6
Variación relativa	1,56	1,35	1,70	0,88	1,41	10,70	16,04
Precisión del experimento	98,44	98,65	98,30	99,12	98,59	89,30	83,96
Curtosis	-1,11	-0,78	-0,57	-0,64	-0,96	-1,59	-1,51
Coefficiente de asimetría	-0,39	0,29	0,10	0,24	-0,29	0,25	0,44
Rango	0,4	1,48	4	8,47	0,65	19	15
Mínimo	0,89	3,4	8	31,22	1,41	1	0
Máximo	1,29	4,88	12	39,69	2,06	20	15
Intervalo de confianza (95%)	0,034	0,108	0,333	0,610	0,048	1,910	1,612
Límite inferior de μ	1,09	4,02	9,7	34,82	1,70	7	4
Límite superior de μ	1,16	4,23	10,4	36,04	1,80	11	7
N	45	45	45	45	45	45	45

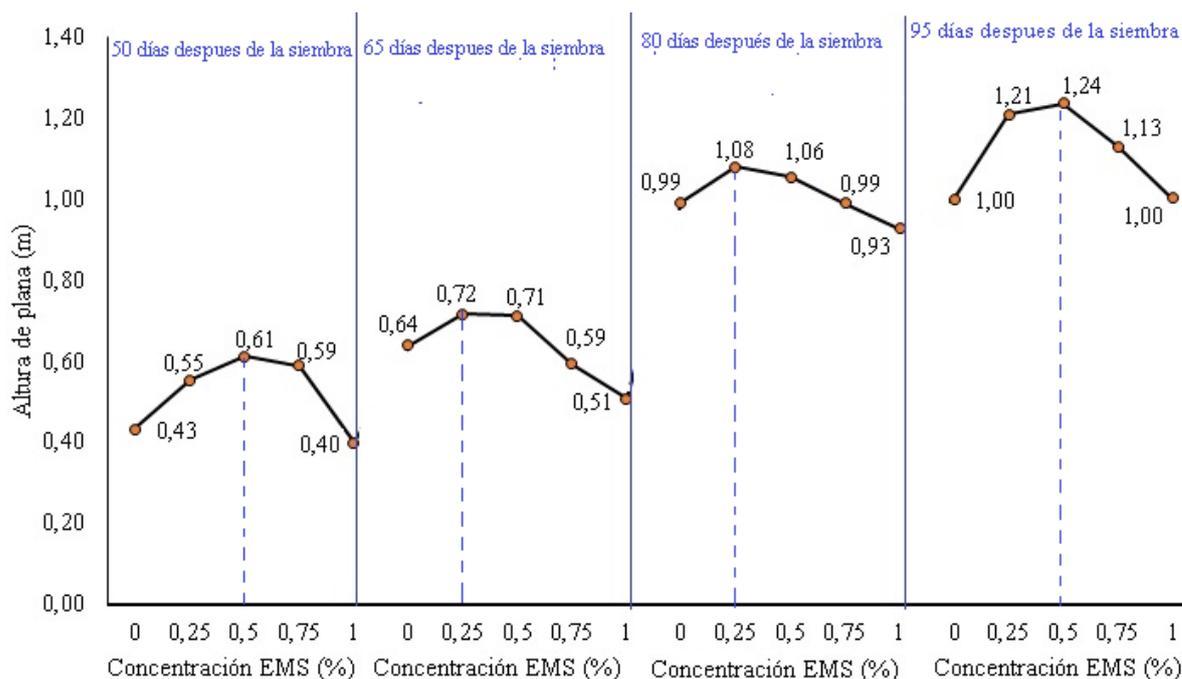
Tabla 8.

Promedios de altura de las plantas (m) de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.

Días después de la siembra	Concentración de EMS	Tiempo de impregnación EMS			Media AP (m)
		0 horas	24 horas	48 horas	
50	0%	0,43	-	-	0,43
	0,25%		0,56	0,55	0,55
	0,50%		0,63	0,60	0,61
	0,75%		0,60	0,57	0,59
	1,00%		0,49	0,31	0,40
65	0%	0,64			0,64
	0,25%		0,68	0,75	0,72
	0,50%		0,71	0,71	0,71
	0,75%		0,65	0,53	0,59
	1,00%		0,53	0,48	0,51
80	0%	0,992			0,99
	0,25%		1,08	1,08	1,08
	0,50%		1,06	1,05	1,06
	0,75%		1,00	0,98	0,99
	1,00%		0,89	0,97	0,93
95	0%	1,00			1,00
	0,25%		1,16	1,26	1,21
	0,50%		1,22	1,26	1,24
	0,75%		1,20	1,06	1,13
	1,00%		1,04	0,97	1,00

Figura 1.

Efecto de las concentraciones de EMS sobre la altura de las plantas de saboya en mediciones de 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.



4.1.2. Número de hojas

En la medición a los 50 días después de la siembra del pasto saboya, en el testigo se constató un promedio de 6 hojas/planta, a los 65 días hubo 7 hojas/planta, a los 80 días, 8 hojas/planta y a los 95 días 9 hojas/planta, lo que significa un incremento de una hoja cada quince días.

En la evaluación a los 95 días, con la concentración de EMS 0,50% e impregnación de 24 horas, se registraron 10 hojas/planta y con la impregnación a las 48 horas, se observaron 11 hojas/planta, en promedio. Con las dosis de 0,75% y 1% de EMS se evidenció que se mantenía en 10 hojas/planta (tabla 9).

Tabla 9.

Promedios de número de hojas de las plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.

Días después de la siembra	Concentración de EMS	Tiempo de impregnación EMS			Media NH
		0 horas	24 horas	48 horas	
50	0%	6			6
	0,25%		6	7	6
	0,50%		6	6	6
	0,75%		6	5	6
	1,00%		6	5	6
65	0%	7			7
	0,25%		6	7	7
	0,50%		7	7	7
	0,75%		7	7	7
	1,00%		7	7	7
80	0%	8			8
	0,25%		8	8	8
	0,50%		9	8	8
	0,75%		8	8	8
	1,00%		8	8	8
95	0%	9			9
	0,25%		10	11	11
	0,50%		10	10	10
	0,75%		9	10	10
	1,00%		9	10	10

4.1.3. Diámetro del macollo

En la medición de diámetro del macollo, a los 50 días después de la siembra del pasto saboya, en el testigo se constató un promedio de 2,7 cm, a los 65 días 2,7 cm, a los 80 días fue 3,4 cm y a los 95 días llegó a 4,0 cm. En 45 días aumentó solo 1,3 cm de diámetro de macollo. En la evaluación a los 95 días, con la concentración de EMS 0,50% e impregnación de 24 horas, se registraron 4,4 mm y con 48 horas de impregnación alcanzó los 4,7 mm (tabla 10).

Tabla 10.

Promedios de diámetro de macollo (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.

Días después de la siembra	Concentración de EMS	Tiempo de impregnación EMS			Media DT (mm)
		0 horas	24 horas	48 horas	
50	0%	2,1			2,1
	0,25%		2,6	2,9	2,8
	0,50%		3,0	2,6	2,8
	0,75%		2,5	2,0	2,2
	1,00%		2,0	2,1	2,1
65	0%	2,7			2,7
	0,25%		3,2	3,7	3,5
	0,50%		3,8	3,5	3,6
	0,75%		2,9	2,8	2,9
	1,00%		2,7	2,7	2,7
80	0%	3,4			3,4
	0,25%		3,6	3,9	3,8
	0,50%		3,9	3,9	3,9
	0,75%		3,4	2,8	3,1
	1,00%		2,7	2,7	2,7
95	0%	4,0			4,0
	0,25%		4,0	4,6	4,3
	0,50%		4,4	4,7	4,5
	0,75%		3,8	3,6	3,7
	1,00%		4,0	4,0	4,0

4.1.4. Longitud de hoja

En la medición de la longitud de la hoja, en el testigo, a los 50 días después de la siembra del pasto saboya, se constató un promedio de 16 cm a los 65 días 22 cm, a los 80 días 31 cm y a los 95 días 35 cm, es decir hubo un incremento de 19 cm en 45 días.

En la evaluación a los 95 días fue más representativa en crecimiento de la longitud de hoja, con la concentración de 0,50% de EMS e impregnación a las 24 horas se obtuvo hojas de 37 cm de largo y con la impregnación por 48 horas se obtuvo una media de 36 cm (tabla 11).

Tabla 11.

Promedios de longitud de hoja (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.

Días después de la siembra	Concentración de EMS	Tiempo de impregnación EMS			Media LH (cm)
		0 horas	24 horas	48 horas	
50	0%	16			16
	0,25%		15	17	16
	0,50%		18	15	17
	0,75%		17	16	16
	1,00%		16	16	16
65	0%	22			22
	0,25%		23	27	25
	0,50%		27	23	25
	0,75%		22	22	22
	1,00%		24	27	25
80	0%	31			31
	0,25%		31	31	31
	0,50%		31	30	31
	0,75%		31	31	31
	1,00%		27	29	28
95	0%	35			35
	0,25%		35	39	37
	0,50%		37	36	37
	0,75%		34	36	35
	1,00%		34	33	34

4.1.5. Ancho de hoja

En la medición del ancho de la hoja, a los 50 días después de la siembra, en el pasto saboya, en el testigo se constató un promedio de 0,70 cm a los 65 días alcanzó el promedio 1,09 cm, a los 80 días el ancho fue 1,44 cm y a los 95 días alcanzó 1,85 cm.

En la evaluación a los 95 días después de la siembra, el ancho de la hoja para la concentración 0,50% con 24 horas de impregnación en EMS resultó más alto, alcanzando el promedio de 1,93 cm (tabla 12).

Tabla 12.

Promedios de ancho de la hoja (cm) en plantas de saboya, en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS.

Días después de la siembra	Concentración de EMS	Tiempo de impregnación EMS			Media AH (cm)
		0 horas	24 horas	48 horas	
50	0%	0,70			0,70
	0,25%		0,70	0,80	0,75
	0,50%		0,76	0,62	0,69
	0,75%		0,75	0,73	0,74
	1,00%		0,77	0,76	0,76
65	0%	1,09			1,09
	0,25%		1,11	1,32	1,22
	0,50%		1,24	1,22	1,23
	0,75%		1,22	1,07	1,15
	1,00%		1,12	1,22	1,17
80	0%	1,44			1,44
	0,25%		1,51	1,50	1,51
	0,50%		1,47	1,42	1,44
	0,75%		1,60	1,35	1,48
	1,00%		1,31	1,42	1,37
95	0%	1,85			1,85
	0,25%		1,91	1,89	1,90
	0,50%		1,92	1,71	1,81
	0,75%		1,82	1,57	1,70
	1,00%		1,50	1,60	1,55

4.1.6. Número final de ninfas por planta

Los resultados del comportamiento de la plaga, se exponen en la tabla 13, donde se destaca que, en el testigo, las ninfas se incrementaron de 5 a 20 individuos. El comportamiento con la concentración 0,25% no es muy clara, respecto de los tiempos de impregnación a las 24 y 48 horas. Sin embargo, con el 1% de concentración de EMS y un tiempo de impregnación de 24 horas se encontró en dos ninfas, que fue el más bajo, mientras que con 48 horas de impregnación se observaron tres ninfas.

Estos resultados conllevan a ampliar los análisis estadísticos, usando el análisis de regresión, para una mejor comprensión del fenómeno biológico.

Tabla 13.

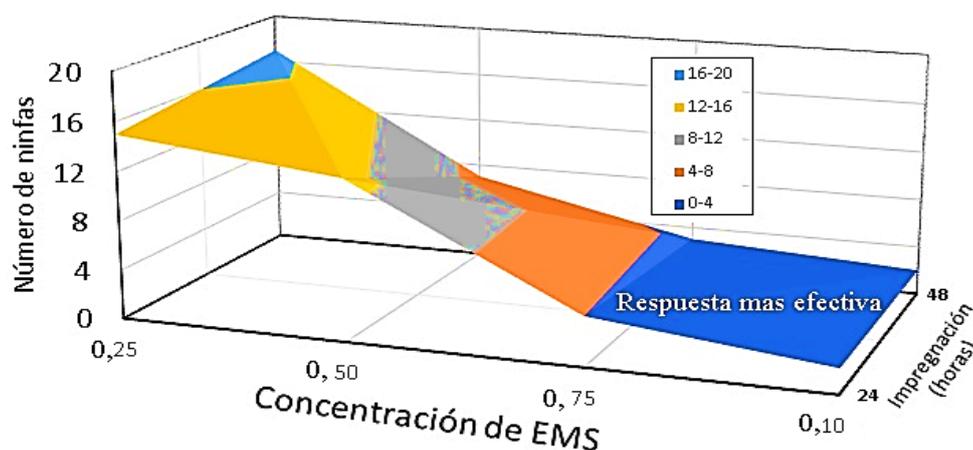
Valores máximos, mínimos y promedios del número de ninfas observadas a los 95 días después de la siembra, en pasto saboya en relación al tiempo de impregnación y concentraciones de EMS.

Tiempo de impregnación con EMS	Concentraciones de EMS				
	0%	0,25%	0,50%	0,75%	1,00%
Valores máximos de ninfas/planta					
0 horas	20	-	-	-	-
24 horas	-	15	14	6	2
48 horas	-	19	9	4	3
Ninfas	20	19	14	6	3
Valores mínimos de ninfas/planta					
0 horas	18	-	-	-	-
24 horas	-	14	12	3	1
48 horas	-	16	6	2	1
Ninfas	18	14	6	2	1
Valores promedios de ninfas/planta					
0 horas	19	-	-	-	-
24 horas	-	15	13	4	2
48 horas	-	17	7	3	2
Ninfas	19	16	10	4	2
Porcentaje promedio	100	84%	53%	21%	11%

Al analizar la superficie de respuesta del número de ninfas en función de los tiempos de impregnación y las concentraciones de EMS. En la figura 2, se distingue que las concentraciones de 0,75% y 1,00%, independientemente de los tiempos de impregnación, fueron efectivos para la reducción del número de ninfas en el pasto saboya, en condiciones de invernadero.

Figura 2.

Número promedio de ninfas en función de la concentración de EMS y los tiempos de impregnación a los 95 días después de la siembra.



4.1.7. Vigor del crecimiento vegetal

Las características morfológicas expresan el crecimiento del pasto Saboya, a lo largo del tiempo. A los 95 días después de la siembra, se considera que es más notoria la respuesta de sobrevivencia y expresión del vigor vegetal. Se puede evidenciar que la dosis a 0,50 % de EMS con 24 horas de impregnación y 0,25 % de EMS con 48 horas de impregnación, favorecieron el crecimiento morfológico, donde la altura, diámetro del tallo, número de hojas, largo y ancho de la hoja, se evidencian que están muy relacionados con el vigor (tabla 14).

Los promedios de la variable vigor obtenidos a partir de una categoría donde se aprecia que con concentraciones EMS de 0,50 % a 24 horas y 0,25 % a 48 horas respectivamente, se alcanzan valores de 1,80 considerándose como plantas muy vigorosas según escala CIAT (Peralta *et al.*, 2003). La evaluación descriptiva se basó en altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, ancho de la hojas y largo de la hoja, realizado a los 95 días. Los mutantes de lento desarrollo y enano presentaron una disminución en el crecimiento del 47,5% y 81,5% respectivamente (Castillo *et al.*, 2015).

Tabla 14.

Comportamiento fenotípico a los 95 días después de la siembra en pasto saboya y evaluación del vigor vegetal (VV) a los 115 días en función de los factores y niveles en estudio.

Tratamientos	AP	DM	NH	LH	AH	VV	Categoría vigor
Testigo	1,06	3,60	8,70	34,72	1,49	8,40	Plantas menos vigorosas que lo normal, débiles y pequeñas.,
A1B1	1,05	3,80	8,40	34,51	1,87	3,70	Plantas vigorosa.
A1B2	1,33	4,40	9,90	36,93	1,93	1,80	Plantas muy vigorosas.
A1B3	0,91	4,00	7,60	32,32	1,47	7,80	Plantas menos vigorosas que lo normal.
A1B4	1,54	4,70	11,60	38,87	1,99	5,20	Plantas intermedias o normales
A2B1	1,18	4,00	10,20	34,82	1,84	3,40	Plantas vigorosas.
A2B2	1,21	3,90	9,80	34,81	1,80	5,00	Plantas intermedias o normales
A2B3	1,06	2,80	8,80	33,27	1,88	1,80	Plantas muy vigorosas.
A2B4	1,23	4,60	9,70	36,65	1,71	8,00	Plantas menos vigorosas débiles y pequeñas.

Nota: Factor A= tiempos de impregnación en horas. Factor B = concentraciones de EMS %

4.1.8. Número de Salivazos por planta

Los valores de las poblaciones, de salivazos inoculados, y final, de observados a los 60 días después, en cada tratamiento, se indican en la tabla 15. Para esta evaluación, se procedió a extraer las ninfas de cada planta en estudio, determinando que en el testigo se registra el mayor número de ninfas y con las concentraciones 0,75% y 1,0% EMS se observaron solo

de 2 a 3 ninfas. Respecto de la intensidad de daño, por el aumento de la población de ninfas en el testigo, se deduce que la plaga pasó por los diferentes estadios y la reducción de especímenes se relaciona al efecto de EMS, resultado que coincide con lo expuesto por Valle *et al.* (2018).

Tabla 15.

Número de Salivazos a los 60 días después de la inoculación, en Panicum maximum, mediante etilmetanosulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andígena bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Factor A: Tiempo de Impregnación	Factor B: EMS (%)	Población inicial (ninfas/planta)	Población final (ninfas/planta) 60 días de la inoculación
Testigo	24 horas	0,00 %	5 ninfas	19 ninfas
A1B1	24 horas	0,50 %	5 ninfas	13 ninfas
A1B2	24 horas	1,00 %	5 ninfas	2 ninfas
A1B3	48 horas	0,50 %	5 ninfas	7 ninfas
A1B4	24 horas	0,25 %	5 ninfas	15 ninfas
A2B1	24 horas	0,75 %	5 ninfas	4 ninfas
A2B2	8 horas	0,25 %	5 ninfas	17 ninfas
A2B3	48 horas	0,75 %	5 ninfas	3 ninfas
A2B4	48 horas	1,00 %	5 ninfas	2 ninfas

Nota: Factor A= tiempos de impregnación en horas. Factor B = concentraciones de EMS %

Como información complementaria, se refiere a la intensidad del daño al cultivo de pasto saboya, con resultados erráticos para las bajas concentraciones y con daños leves y sin daños en concentraciones de 0,50%, 0,75% y 1,00% de EMS (tabla 16). Estudios similares realizados por entomólogos indican que los ataques intensos de los Cercópodos causan secamiento total del follaje, ataques leves generan un retardo del crecimiento, reduce la producción de forraje, los daños de esta plaga se han registrados en regiones húmedas sembradas con gramíneas susceptibles (Sotelo y Cardona, 2001).

Tabla 16.

Severidad de la plaga (salivazo) por plantas a los 60 días después de la inoculación, en Panicum maximum mediante etil-metanosulfonato y su efecto sobre el control de Mahanarva andigena bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	Factor A: tiempo de impregnación (horas)	Factor B: Concentración EMS (%)	Presencia de ninfas por planta/promedio	Intensidad del daño al cultivo
Testigo	--	0,00 %	2	Moderado
A1B1	24	0,25 %	2	Moderado
A2B1	24	0,50 %	1	Leve
A1B2	24	0,75 %	0	Sin daño
A2B2	24	1,00 %	0	Sin daño
A1B3	48	0,25 %	2	Moderado
A2B3	48	0,50 %	1	Leve
A1B4	48	0,75 %	0	Sin daño
A2B4	48	1,00 %	0	Sin daño

Nota: Factor A= tiempos de impregnación en horas. Factor B = concentraciones de EMS %

4.2. Análisis de varianza

El análisis de varianza se realizó para las variables altura de planta (AP) y número de ninfas por planta. La variable altura de planta que está directamente relacionada con las otras características morfológicas, explica el comportamiento de los tiempos de impregnación y de las concentraciones de EMS.

Los tiempos de impregnación resultaron estadísticamente iguales, por tanto: A1=A2. Las comparaciones ortogonales. En la tabla 17, se expone el análisis de la varianza de la altura de las plantas de saboya. Respecto de los resultados en las concentraciones de EMS, B1=B2, B2>B3 y B3>B4.

El análisis de la varianza de la variable número de ninfas por planta, a los 95 días después de la siembra, se indica en la tabla 18, evidenciándose que, en esta variable sanitaria, hay diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre los tiempos de impregnación de EMS. En la tabla 19, se resume las medias \pm errores típicos y rangos de Tukey ($\alpha = 0,05$) para las variables altura de planta del pasto saboya y el número final de ninfas/planta. Los resultados evidencian que la concentración de EMS tiene efecto directo sobre la altura de las plantas, con una respuesta no lineal.

Tabla 17.*Análisis de varianza de la altura de las plantas de saboya a los 95 días de la siembra.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F calculada	F _{0,05}	F _{0,01}	p de F	S.E.
A: Tiempo de impregnación								
A1 = A2 1,15=1,14 m	1	0,003	0,003	0,295	4,11	7,40	0,591	ns
B: Concentraciones de EMS								
B1 = B2 1,21=1,24 m	1	0,004	0,004	0,399	4,11	7,40	0,532	ns
B2 > B3 1,24 > 1,13 m	1	0,060	0,060	5,701	4,11	7,40	0,022	*
B3 > B4 1,13 > 1,00	1	0,080	0,080	7,601	4,06	7,40	0,009	*
Interacción AB	3	0,080	0,03	2,534	2,87	4,38	0,072	ns
Testigo vs resto	1	0,100	0,100	9,501	4,11	7,40	0,004	**
Tratamientos	8	0,231	0,029	2,745	2,21	3,05	0,018	*
Error experimental	36	0,379	0,011					
Total	44	0,610						
	CV	4,83%						

Nota: GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, S.E. significación estadística. ns =significa no hay diferencia estadística, * hay diferencia significativa y ** hay diferencia altamente significativa.

Tabla 18.*Análisis de varianza de la variable número final de ninfas en las plantas de saboya a los 95 días de la siembra.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F calculada	F _{0,05}	F _{0,01}	p de F	SE
A: Tiempo de impregnación								
A1 vs A2 8>7 ninfas	1	1229,28	1229,28	1756,11	4,11	7,40	0,0001	**
B: Concentraciones EMS (3)								
B1 vs B2	1	211,25	211,25	301,78	4,11	7,40	0,0001	**
B2 vs B3	1	16,20	16,20	23,14	4,11	7,40	0,0001	**
B3 vs B4	1	89,27	89,27	127,53	4,06	7,40	0,0001	**
Interacción AB	3	545,14	181,71	259,59	2,87	4,38	0,0001	**
Testigo vs resto	1	547,12	547,12	781,60	4,11	7,40	0,0001	**
Tratamientos	(8)	3183,40	397,92	568,46	2,21	3,05	0,0001	**
Error experimental	36	25,20	0,70					
Total	44	1899,90						
	CV	4,83%						

Nota: GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, S.E. significación estadística. ** hay diferencia altamente significativa.

Tabla 19.

Medias y errores típicos de las variables altura de planta y número final de ninfas en pasto saboya tratada con EMS.

Concentraciones EMS (%)	Altura de planta (m)		Número final de ninfas	
	Media \pm Error	Rangos de Tukey $\alpha=0,05$	Media \pm Error	Rangos de Tukey $\alpha=0,05$
0,25	1,21 + 0,02	A	16	A
0,50	1,24 + 0,02	A	10	B
0,75	1,13 + 0,02	B	4	C
1,00	1,00 + 0,02	C	2	D

Nota: En los rangos de Tukey, letras iguales indica que no hay diferencias estadísticas.

En la tabla 20, se expone los rangos de Tukey ($\alpha=0,05$), sobre el factor A, tiempos de impregnación de EMS, sobre la variable altura de planta de saboya donde hay efectos diferenciados hasta los 65 días, sin embargo, a los 95 días, las alturas de las plantas de saboya resultaron estadísticamente iguales (1,14 m=1,12 m). Esta situación puede atribuirse a un proceso de adaptación de las plantas tratadas con EMS, además, se deduce que las evaluaciones morfo-agronómicas en saboya apropiadas deben hacerse después de los 60 días. En la tabla 21, se observa las medias y los rangos de Tukey ($\alpha=0,05$), confirmándose que la concentración más adecuada de EMS es aproximadamente 0,50%. La concentración de EMS óptima se determina más adelante, usando las técnicas del cálculo diferencial.

Tabla 20.

Altura de planta en función del tiempo de impregnación EMS a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.

Factor A: Tiempo de impregnación EMS	Días de evaluación			
	50	65	80	95
24	0,54 a	0,64 a	1,10 a	1,12 a
48	0,49 b	0,62 b	1,02 a	1,14 a

Nota: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, según Tukey al 5% de probabilidad.

Tabla 21.

Altura de planta en función de las concentraciones de EMS a los 50, 65, 80 y 95 días después de la siembra.

Factor B: Dosis de EMS	Días después de la siembra			
	50	65	80	95
0,25%	0,55 b	0,72 a	1,08 a	1,21 a
0,50%	0,61 a	0,71 a	1,06 a	1,24 a
0,75%	0,59 ab	0,59 c	0,99 ab	1,13 b
0,100%	0,40 c	0,51 d	0,93 b	1,00 c
0%	0,43 c	0,64 b	0,99 ab	1,00 c

Nota: Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, según Tukey al 5% de probabilidad.

4.3. Análisis de correlaciones

En el análisis de correlaciones (tabla 22), se consideró la lectura a los 95 días después de la siembra, siendo $n=45$ y grados de libertad $(n-2) = 43$. Los valores críticos, para los niveles de significación al 5% y al 1%, respectivamente, se obtuvieron de la tabla de valores críticos “r de Pearson”, donde: $r_{(\alpha=0,05, GL=44)} = 0,294$ y $r_{(\alpha=0,01, GL=44)} = 0,389$.

Mediante las correlaciones se determinó que el número de ninfas se correlaciona más intensamente con la longitud ($r=0,451^{**}$), ancho de la hoja ($r=0,767^{**}$) y diámetro del macollo ($r= 0,430^{**}$).

Un resultado clave es que las características morfológicas en estudio se correlacionan positivamente entre sí ($p<0,05$). Esta situación, sugiere que la producción de biomasa, tanto en fresco como en materia seca, se relacionan con la altura de planta y el diámetro del macollo.

Tabla 22.

Coefficientes de correlación momento producto de Pearson entre variables morfológicas y sanitarias en estudio del salivazo en pasto saboya.

<i>Variables</i>	<i>AP</i>	<i>NHP</i>	<i>DM</i>	<i>LH</i>	<i>AH</i>	<i>NN</i>	<i>INN</i>	<i>NP P</i>
Altura de planta (AP)	1							
Número de hojas por planta (NHP)	0,373*	1						
Diámetro del macollo (DM)	0,624* *	0,367 *	1					
Largo de hoja (LH)	0,445* *	0,238	0,482* *	1				
Ancho de la hoja (AH)	0,487* *	0,261	0,344*	0,331*	1			
Número final de ninfas (NN)	0,293	0,198	0,430* *	0,451* *	0,767* *	1		
Incremento de ninfas (INN)	0,195	0,170	0,388*	0,405* *	0,714* *	0,989* *	1	
Ninfas presentes/planta (NNP)	0,335*	0,268	0,511* *	0,347*	0,699* *	0,921* *	0,904* *	1

Nota: Sin asterisco no se evidencia correlación. Con uno y con dos asteriscos hay correlación al 95% y 99% de confianza, respectivamente.

4.4. Análisis de regresión

El número final de ninfas, así como el incremento, está correlacionado con el diámetro del tallo, longitud de hoja y ancho de hoja. Esto significa que la disponibilidad de la biomasa del pasto saboya, de aproximadamente tres meses de edad favorece la proliferación de las ninfas de salivazo. Considerando que resulta práctico medir la longitud y el ancho de la hoja, se desarrolló un modelo de regresión múltiple de la forma:

$$Y = f(X_1, X_2)$$

Este modelo se operativizó como:

$$NN = -63,51 + 0,695 (AH) + 27,42(LH)$$

Donde:

NN= número de ninfas a los 95 días después de la siembra.

AH= Ancho de la hoja (cm)

LH= Largo de la hoja (cm)

El coeficiente de determinación $R^2 = 0,632$, el coeficiente ajustado y corregido por el número de variables que intervienen en el modelo, $R^2_{ajustado} = 0,615$.

$$\bar{R}^2 = 1 - \frac{n-1}{n-k-1} [1 - R^2]$$

$$\bar{R}^2 = 1 - \frac{45-1}{45-2-1} [1-0,632] = 0,615$$

Este resultado indica que el modelo multivariado: $NN = -63,51 + 0,695 (AH) + 27,42(LH)$, explica un 61,5% de la reducción del número de ninfas, basado en los datos de las variables agronómicas largo y ancho de la hoja del pasto saboya.

La altura de planta es una característica que tiene correlación positiva significativa ($p < 0,05$) con las otras variables morfológicas, cuyas variaciones representan una expresión nítida del efecto de las concentraciones de EMS. La respuesta observada fue de segundo orden (no lineal), por lo que resultó apropiado un análisis de regresión de tipo cuadrática.

La optimización de la concentración de EMS, se realizó mediante el cálculo diferencial. El modelo polinómico de grado 2, calculado con el programa Excel, fue:

$$AP = 1,01 + 0,897 (EMS) - 0,926 (EMS^2)$$

Donde:

AP = Altura de planta expresado en cm

EMS = Concentración de etil-metanosulfonato (%)

La primera derivada del modelo AP en función de EMS, calculado es la siguiente:

$$AP' = 0,897 - 2(0,926) (EMS) = 0$$

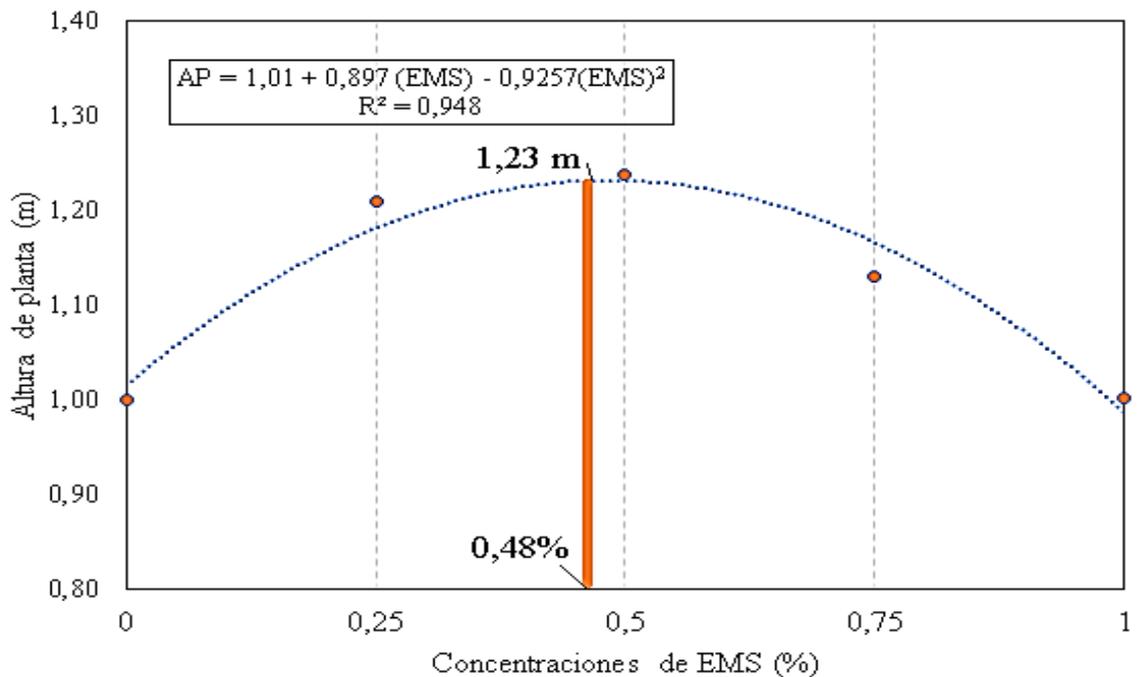
$$0,897 = 1,852 (EMS)$$

$$EMS_{\text{máx}} = 0,897 / 1,852 = 0,48\%$$

Por consiguiente, la más adecuada concentración de EMS = 0,48%, con la cual se alcanza 1,23 m de altura de planta en el pasto saboya, a los 95 días después de la siembra (figura 3).

Figura 3.

Relación de segundo orden entre las concentraciones de EMS y la altura de planta del pasto saboya.



En el análisis de regresión lineal, el modelo $Y=a + b(X)$ fue más apropiado, operativizado como:

$$NN=19-18,6 \text{ (EMS)}$$

Donde:

NN = número de ninfas

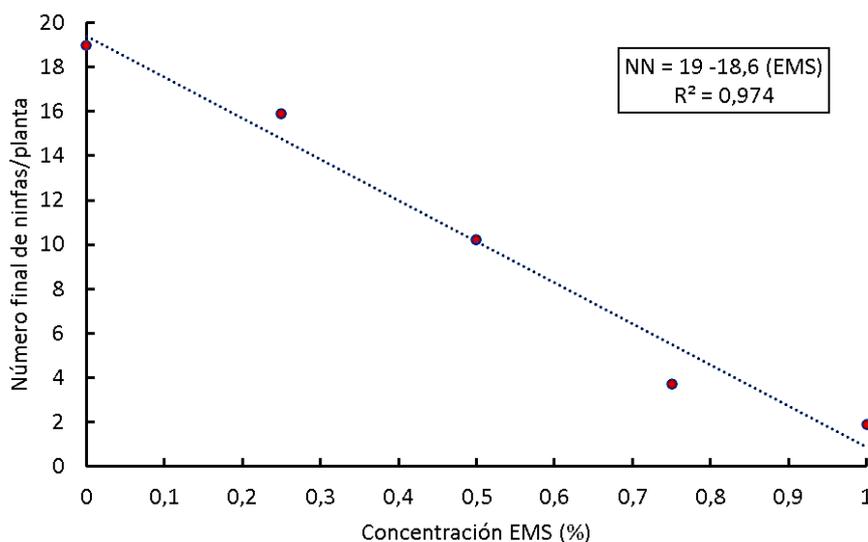
EMS = Concentración de etil- metanosulfonato (%)

El coeficiente de determinación $R^2= 0,974$, indica que la variación observada en el número de ninfas final/planta, depende de las concentraciones de EMS, en el 97,4%, con un efecto de tipo lineal. Sin la impregnación de EMS habría 19 ninfas/planta.

Al usar el nivel más alto de EMS, de 1,0%, el número de ninfas, prácticamente se reduce a niveles cercanos a cero. Por lo tanto, un incremento de 0,1% reduce el número de ninfas en 1,86 ~2 ninfas/planta (figura 4).

Figura 4.

Relación entre concentraciones de EMS y número final de ninfas/planta.



El tiempo de impregnación en EMS puede variar de 24 a 48, pues no tiene impacto en el comportamiento morfo-agronómico del pasto saboya, la concentración si tiene un efecto tanto sobre las características fenotípicas como en la sobrevivencia de las ninfas de salivazo. La mejor concentración de EMS para favorecer el desarrollo vegetativo del pasto saboya resultó 0,48%.

Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Las conclusiones derivadas del presente trabajo de investigación experimental son:

- Las características morfológicas del pasto saboya tienen un comportamiento diferenciado como respuesta a la impregnación de EMS, sin embargo, todas están correlacionadas positivamente ($p < 0,05$).
- Los tiempos de impregnación con EMS, a los 95 días después de la siembra, no tuvieron efecto sobre el comportamiento agronómico, resultando estadísticamente iguales, por lo tanto, pueden variar de 24 a 48 horas ($p > 0,05$).
- La concentración óptima de EMS es 0,48% con la cual se alcanza 1,23 m de altura en plantas del pasto saboya, medido a los 95 días después de la siembra.
- Un incremento en la concentración de EMS del 0,1% reduce el número de ninfas, en 1,86 ~2 ninfas/planta, a los 60 días después de la inoculación.
- Las concentraciones de 0,75% y 1,00%, independientemente de los tiempos de impregnación, fueron efectivos para la reducción del número de ninfas en el pasto saboya, en condiciones de invernadero.
- La población de ninfas de salivazo tiende a incrementarse en las plantas testigo, lo que demuestra que la plaga pasa por los diferentes estadios y que la reducción de especímenes de debe directamente al efecto de EMS.

5.2. Recomendaciones

Validar los resultados del experimento en las zonas de alta incidencia de salivazo, usando tiempos de impregnación de 24 a 48 horas y concentraciones de 0,48% de EMS.

Iniciar un proceso de selección individual de plantas de saboya que presenten las mejores respuestas morfo-agronómicas con EMS, evaluando a los 95 días después de la siembra.

Capítulo VI. Bibliografía

- Alcívar, L., Mosquera, Peralta, M., Gómez, J. y Aguirre, L. (2020). Comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte. *Journal of Science and Research: Revista Ciencia e Investigación*, 5(CININGEC), 294-308. ISSN 2528-8083. <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/1014>
- Apráez, E., Gálvez, A. y Apráez, J. (2019). Edaphoclimatic factors in the production and quality of Saboya grass (*Holcus lanatus* L.) in the highland of Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 36(1), 16-32. <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/rfacia/article/view/4689>
- Arce-Pérez, R. y Morón, M.A. (2000). Taxonomía y distribución de las especies de *Macrodactylus Latreille* (Coleóptera: Melolonthidae) en México y Estados Unidos de América. *Acta zoológica mexicana*, (79), 123-239. <http://www.scielo.org.mx/pdf/azm/n79/n79a9.pdf>
- Arcos, C., Lascano, P. y Guevara, R. (2018). Manejo de asociaciones gramíneas-leguminosas en pastoreo con rumiantes para mejorar su persistencia, la productividad animal y el impacto ambiental en los trópicos y regiones templadas. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*, 2(2), 1-31. <http://revistaecuadorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/72>
- Barahona, A. y Ayala, F.J. (1995). La importancia del contexto y el trabajo de Bárbara McClintock. *Arbor*, 152(598), 9.
- Barrera A., Montenegro L., Sánchez A., Medina M., Villacis M. y Guerra I. (2017). Degradabilidad ruminal *in vitro* de ensilajes de pasto saboya (*Panicum maximum* Jacq.) con diferentes niveles de inclusión de cáscara de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.). *Ciencia y Tecnología*, 10(2), 53-62. <https://revistas.uteq.edu.ec/index.php/cyt/article/view/208/206>
- Benjavad, A., Shahrokhifar, B. y Benjavad, A. (2012). Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *American Journal of Plant Sciences*, 3(12), 1661-1665. https://www.scirp.org/pdf/AJPS20121200001_84961482.pdf
- Castillo, M., De la Cruz, T., y Carrillo, C. (2015). Inducción de mutaciones en crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) usando radiacion Gamma y Etil Metano sulfonato. *Agroproductividad*, 60-64. <https://biblat.unam.mx/hevila/Agroproductividad/2015/vol8/no2/9.pdf>

- Castro, U., Morales, A. y Peck, D. (2005). Dinámica poblacional y fenología del salivazo de los pastos *Zulia carbonaria* (Lallemand) (Homoptera: Cercopidae) en el Valle Geográfico del Río Cauca, Colombia. *Neotropical Entomology*, 34(3), 459-470. <https://www.scielo.br/j/ne/a/d99Y5Q7HBGxzHNHtBgGPD5L/?lang=es>
- Chávez, A., Pérez, A. y Sánchez, E. (2019). Intensidad de pastoreo y esquema de utilización en la selección de la dieta del ganado bovino durante la sequía. *Técnica Pecuaria*, 28(1) 19-34. <https://www.redalyc.org/pdf/613/61338102.pdf>
- Cruz, G. (2017). Aislamiento y selección de cepas mutantes de *Hirsutella citriformis* inducidas por el agente químico: metanosulfonato de etilo (EMS), [Tesis doctoral en ciencias con orientación en biotecnología]. *Universidad Autónoma de Nuevo León*. México. 132 p. <http://eprints.uanl.mx/16674/1/1080290306.pdf>
- Derichs, K., Mosquera, J., Ron-Garrido, L., Puga-Torres, B. y De la Cueva, F. (2021). Intervalos de corte de pasto Saboya (*Panicum máximum* Jacq.), sobre rendimiento de materia seca y composición química de su ensilaje. *Siembra*, 8(2), 1-12. e2506. <https://doi.org/https://doi.org/10.29166/siembra.v8i2.2506>
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. (2020). InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- FACIAG (Facultad de Ciencias Agropecuarias). (10 de enero de 2020). Estación Meteorológica FACIAG/UTB. Comunicación personal. Ing. Víctor Molina. Estación meteorológica.
- Franco-Crespo, C., Morales, L., Lascano, N. y Cuesta, G. (2019). Dinámica de los pequeños productores de leche en la Sierra centro de Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2), 103-120. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.0>
- Gómez, J., Aguirre, L., Gómez, L., Reyes, W., Rodríguez, J. y Arana, L. (2020). Dosis letal media para inducir mutaciones, con rayos gamma, en pasto janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth). *Revista de Producción Animal*, 32(1), 73-83. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e3398>
- González, A., Córdova D., Montero P. y Ronquillo A. (2021). Fenología del pasto janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth.) con el uso de Etil-methasulfanato (C₃ H₈ O₃ S) en condiciones de invernadero. Universidad Técnica de Babahoyo, Congreso Nacional de Facultad de Ciencias Agropecuarias. 8 p.
- Hernández-Muñoz, S., Pedraza-Santos, M., López, P., Gómez-Sanabria, J. y Morales, J. (2019). La mutagénesis en el mejoramiento de plantas ornamentales. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 25(3), 151-167. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.12.022>

- INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). (2017). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria. ESPAC. Quito Ecuador. 23 p. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2017/Informe_Ejecutivo_ESPAC_2017.pdf
- Lamilla, A. (2017). Identificación de segregantes superiores en poblaciones heterocigóticas F2 de arroz japonico (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). [Tesis Ingeniero Agropecuario]. 71 p. Universidad Técnica de Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/3373/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000008.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Lastra, L., Gómez, L. y Castro, U. (2007). Observaciones acerca de la mosca *Salpingogaster nigra* Schiner (*Diptera syrphidae*) como depredador de ninfas del salivazo *Aeneolamia varia*. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. *Notas de investigación, 10-12*. https://www.cenicana.org/pdf_privado/carta_trimestral/ct2007/ct4_07/ct4_07_p10-12.pdf
- Macías D., Vargas P., Solorzano M., Mendoza F. y Intriago F. (2019). Evaluación agroproductiva del pasto *Panicum maximum* CV. Mombaza en el cantón El Carmen, Manabí - Ecuador. *ESPAMCIENCIA, 10* (2), 78-84. http://revistasepam.esпам.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/198/209
- Méndez-Espinoza, C. y Vallejo-Reyna, M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista mexicana de ciencias forestales, 10*(56), 33-64. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>
- Móstiga, M. y Lozada, P. (2019). Insectos y ácaros perjudiciales en los arboricultivos de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. *Idesia, 37*(1), 115-124. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292019005000503>
- Muñoz, B., Sánchez, J., Montejo, L., González, Y. y Reino, J. (2009). Valoración germinativa de 20 accesiones de leguminosas almacenadas en condiciones desfavorables. *Pastos y Forrajes, 32*(3), 1-15. <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v32n3/pyf05309.pdf>
- Muñoz-Chamba, W. (2019). Evaluación mutagénica y antimutagénica de extractos totales de plantas medicinales mediante el ensayo de retromutación en *Salmonella typhimurium*. *CEDAMAZ, 9*(1), 35-40. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/445/649>
- Navarro, M., Febles, G. y Torres, V. (2012). Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. *Pastos y Forrajes, 35*(3), 233-246. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000300001&lng=es&tlng=es.
- Navarro, W., Guevara, A., y Orozco, R. (1988). Elongación del hipocótilo en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) por tratamiento de embriones con mutágenos químicos y físicos. *Uniciencia, 5*(1), 33-38. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5381288>

- Nieto E. (2018). Tipos de investigación. Repositorio institucional, USDG. 1-4. <https://core.ac.uk/download/pdf/250080756.pdf>
- Oladosu, Y., Rafii, M., Abdullah, N., Abdul, M. M., Rahim, H., Hussin, G., Razi M., Abdul M. L. y Kareem, I. (2015). Genetic variability and diversity of mutant rice revealed by quantitative traits and molecular markers. *Agrociencia*, 49(3),249-266. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000300002
- Peralta, E., Murillo, A., Mazón, N., y Pinzón, J. (2003). Evaluación de líneas promisorias de frejol arbustivo con resistencia a roya en Ecuador. Quito. *Preduza*. 1-14. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3204/1/iniapsc7112p64.pdf>
- Perdomo, J. (2018). Ensilaje de avena: una revisión del arte en el contexto colombiano. [Tesis de zootecnia]. Universidad de la Salle. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Bogotá, Colombia. 28 p. <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/35>
- Pérez, H. (2005). Características de las especies forrajeras adaptadas a las condiciones del Noroeste del país. *Forrajes*, 33-41. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-caracteristicas_forrajeria.pdf
- Ricardo, N. (2003). Clasificación de comunidades herbáceas sinántropas. *Acta Botánica Cubana*, 192, 9-22. <http://repositorio.geotech.cu/xmlui/handle/1234/3453>
- Rodríguez, P., Reyna, P., Campos, R., Varela, G., Peña, A. y Gerónimo, L. (2018). Evaluation of the behavior of common bean cultivars and promising lines under natural virus infection. Evaluación del comportamiento de cultivares y líneas experimentales de poroto común frente a infecciones naturales de virus. *Horticultura argentina*, 37(94), 14–23. <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/4429>
- Schütts, R., Chequeller, R., de Souza, V., Rodríguez, R. y Lehmann, M. (2017). Atividade modulatória de bactérias ácido lácticas sobre os danos genéticos induzidos pelo etilmetano-sulfonato. In 3° encontro ulbra de bolsistas cnpq e fapergs. 6 p. <http://www.eventos.ulbra.br/index.php/eucf/eucf3/paper/viewFile/2598/1174>
- Sotelo, G. y Cardona, C. (2001). *Manejo integrado del salivazo de los pastos con énfasis en resistencia varietal*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 150 p. <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/57a08db740f0b652dd001b06/R6606r.pdf>
- Valle, S., Iparraguirre, M., Caicedo, W., Díaz, L., Uvidia, H., y Carrera, K. (2018). Evaluación del ciclo de vida del salivazo *Mahanarva andigena* sobre plántulas de caña de azúcar. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 7(1), 19-26. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6977758>
- Vera, H., Vera, C., Bello, I., Tipán, J., Mendoza, G. y Avellán, M. (2016). Bioensayos para potenciar extractos vegetales y controlar insectos-plagas del tomate (*Lycopersicum*

esculentum Mill). *Avances en Investigacion Agropecuaria*.20(3),17-32.
<http://ww.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2016/sept/2.pdf>

Winkler, H., Cereijo, A., Muchut, R., Dileo, P., Scarpin, G., Lorenzini, F., Roeschlin R., Paytas M. y Landau, A. (2020). Genotipos y mejoramiento genético: Mutagénesis como técnica en la búsqueda de variabilidad genética. *Asociación para la Promoción de la Producción Algodonera*, 59-65. <http://appasantafe.org.ar/edicion-2019-2020/>

Zambrano, J., Peña, M. y Vera, H. (2021). Efecto de inoculación micorrízica arbuscular combinada con fertilización nitrogenada en el pasto saboya (*Megathyrus maximus*). *ESPAMCIENCIA*, 12(1),46-55.
http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/239.

ANEXO 1: Registro fotográfico de la investigación en pasto Saboya



Foto 1.
Póster del proyecto UTB



Foto 2.
Trasplante de semilleros del material vegetal



Foto 3.
Mantenimiento de semilleros de saboya



Foto 4.
Recolección de insectos para inoculación



Foto 5.
Inoculación del insecto plaga



Foto 6.
Ninfa de salivazo