



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TRABAJO DE TITULACIÓN.

**Trabajo experimental, Presentado al H. Consejo Directivo de la
Facultad previo la obtención del título de:**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TEMA:

Caracterización de Alfalfa Granada Mejorada inducida a
mutación mediante etilmetasulfonato (EMS).

AUTOR:

Pedro Alexander Villasagua Navarro.

TUTOR:

Ing. Gustavo Vásconez Galarza MSc.

Babahoyo - Los Ríos – Ecuador.

2023

ÍNDICE.

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos.....	3
1.1.1. Objetivo General.....	3
1.1.2. Objetivo Específicos	3
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Características generales de la Alfalfa.....	4
2.2. Alfalfa Granada Mejorada.....	4
2.3. Composición química y características morfológicas.....	5
2.4. Clasificación Taxonómica.....	5
2.5. Descripción botánica.....	5
2.5.1. Raíces.....	5
2.5.2. Tallos.....	6
2.5.3. Hojas.....	6
2.5.4. Flores.....	6
2.5.5. Fruto.....	6
2.6. Producción forrajera.....	7
2.6.1. Materia verde.....	7
2.6.2. Materia seca.....	7
2.7. Característica de la calidad forrajera del forraje de la Alfalfa.....	7
2.8. Condiciones climatológicas y edafológicas.....	7
2.8.1. Temperatura.....	7
2.8.2. Humedad.....	8
2.8.3. Ph.....	8
2.9. Mutagénesis.....	8
2.10. Tipos de mutágenos.....	9

2.11.	Mutación inducida.....	9
2.12.	Etilmetasulfonato (EMS).....	9
2.13.	Mutagénesis por Etilmetasulfonato.....	10
2.14.	Impregnación con EMS.....	10
2.15.	Enfermedades y plagas.....	11
2.16.	Plagas.....	11
2.16.1.	Pulgones.....	11
2.16.2.	Gusano verde.....	12
2.16.3.	Trips.....	12
2.16.4.	Mosca de la Alfalfa.....	12
2.17.	Enfermedades.....	12
2.17.1.	Roya de Alfalfa.....	12
2.17.2.	Pecas (<i>Pseudopeziza medicaginis</i>).....	13
2.17.3.	Mildio de la Alfalfa.....	13
2.17.4.	Viruela de las hojas.....	13
III.	Materiales y métodos.....	14
3.1.	Características del área de estudio.....	14
3.2.	Materiales.....	14
3.3.	Métodos.....	15
3.4.	Factores de estudio.....	15
3.5.	Metodología de trabajo.....	15
3.6.	Tratamientos.....	15
3.7.	Diseño experimental.....	16
3.7.1.	Análisis de varianza.....	16
3.8.	Manejo del ensayo.....	17
3.8.1.	Impregnación de semillas.....	17
3.8.2.	Preparación del terreno.....	17

3.8.3. Siembra.....	17
3.8.4. Riego.....	17
3.8.5. Fertilización.....	18
3.8.6. Control de malezas.....	18
3.8.7. Cosecha.....	18
3.9. Datos a evaluar.....	18
3.9.1. Índice de germinación.....	18
3.9.2. Altura de la planta.....	18
3.9.3. Diámetro de tallo.....	18
3.9.4. Número de ramas.....	18
3.9.5. Número de hojas.....	19
IV. RESULTADO.....	20
V. DISCUSION.....	30
VI. CONCLUSIONES.....	32
VII. RECOMENDACIONES.....	33
VIII. RESUMEN.....	34
IX. SUMMARY.....	35
X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	36
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química y morfológica de la Alfalfa Granada Mejorada. .	5
Tabla 2: Clasificación Taxonómica.	5
Tabla 3: Porcentaje de concentración de los tratamientos.	15
Tabla 4: Análisis de varianza.	16
Tabla 5: Altura de plantas sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.	21
Tabla 6: Diámetro del tallo sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.	23
Tabla 7: Número de ramas sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.	26
Tabla 8: Número de hojas sometidas diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.	28

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Altura de plantas por semanas.	22
Gráfico 2: Diámetro del tallo por semana.	24
Gráfico 3: Número de ramas por semana.	26
Gráfico 4: Número de hojas por semana.	28

INTRODUCCIÓN.

La alfalfa es un grupo de leguminosa (fabaceae) son de ciclo largo, producen gran cantidad de fuente forrajera proteica que es esencial para alimentación del ganado bovino. Su origen se dio en Asia Menor y el sur del Cáucaso.

Esta leguminosa es un recurso clave para la productividad agrícola, ya que su valor nutricional, la producción de forraje, el hábito de crecimiento, persistencia y capacidad de fijar simbióticamente el nitrógeno atmosférico, la transforman en una especie importante para diversos sistemas de producción agrícola. (Capelo, 2009)

Según las últimas encuestas mundiales este cultivo esta alrededor de 33 millones de hectáreas. Europa tiene extensiones de tierra más cultivada en: Italia con 1,2 millones, Rusia con 1,1 millones, Francia 88 mil hectáreas. En América, Estados Unidos es el mayor país productor de alfalfa con más de 10 millones de hectáreas. Más de 1,2 millones de hectáreas en Canadá. En Sudamérica, Argentina tiene la segunda mayor superficie cultivada de alfalfa con 7,5 millones de hectáreas. (Capelo, 2009)

En el Ecuador, la alfalfa es una de las mejores alternativas forrajeras para la alimentación del ganado bovinos y cuyes ya que posee mayor cantidad de proteína, esta leguminosa tiene mayor adaptabilidad en la región sierra, la extensión de este cultivo está considerado en un 70% de la tierra con fines de producción. (ESPAC, 2020)

La variedad de alfalfa granada mejorada es una especie desarrollada para corte a una altura de 60 cm, con gran adaptabilidad y tolerancia a la humedad, muy buen rendimiento estable desde la primera cosecha y buena digestibilidad y palatabilidad.

El Etilmetanosulfonato (EMS) es un compuesto químico con propiedades de mutágeno, teratógeno y carcinógeno. Una de las mayores virtudes de la mutagénesis con EMS es que la reiteración de las mutaciones no depende del tamaño del genoma, pudiéndose obtener también mutaciones alélicas. Otro beneficio del EMS es su elevado nivel de saturación sin causar un daño mayor en el ADN como aneuploidía, fecundidad reducida y mortalidad. (Rojas, 2016)

Inducir mutaciones es una forma efectiva para obtener variaciones en un cultivo dado, ya que brinda la oportunidad de crear rasgos deseados que no se encuentran en la naturaleza o que se han extinguido a través del proceso evolutivo. Las mutaciones inducidas ocurren cuando las partes de las plantas se tratan con mutágenos químicos o físicos. Esto facilita que se imiten mutaciones espontáneas y se incremente artificialmente la diferencia genética. (Polanco, 2014)

En la Universidad Técnica de Babahoyo se realizan estudios para evaluar la adaptabilidad de la Alfalfa Granada Mejorada se implementaron 5 tratamientos respectivo y diferentes repeticiones con etilmetasulfonato (EMS) para analizar diferentes parámetros como el comportamiento de la planta, condiciones climáticas, plagas y enfermedades.

1.1. Objetivos.

1.1.1. Objetivo General

- Evaluar la caracterización morfológica de Alfalfa Granada Mejorada inducida mediante etilmetasulfonato (EMS).

1.1.2. Objetivo Específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación de diferentes dosis de etilmetasulfonato (EMS) en semillas de Alfalfa Granada Mejorada.
- Analizar el índice de germinación de la Alfalfa Granada Mejora sembradas en campo.
- Determinar el comportamiento morfológico de la Alfalfa Granada Mejorada sometida a etilmetasulfonato (EMS).

MARCO TEÓRICO

2.1. Características generales de la Alfalfa.

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es una de las escasas opciones forrajeras en áreas con largas sequías y pocas fuentes de agua para riego. Tiene un alto valor nutricional (24% de proteína), presenta una raíz profunda y fijadora de nitrógeno (N) en la simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*, por lo que se considera un cultivo que ayuda a perfeccionar la calidad y protección del suelo. (Dammer, 2004)

(Ramirez, 2015), describe a la alfalfa con una composición de fibra muy estable, que contiene un 8 % de pectinas, un 10 % de hemicelulosas, un 25 % de celulosa y 7 a 8% de lignina. Por lo tanto, asegura un rápido paso por el tracto digestivo, una importante proporción de fibra soluble y un gran volumen de tampón.

2.2. Alfalfa Granada Mejorada.

La alfalfa granada mejorada conocida también como la reina de las forrajeras, Aragón, alfaz, mielgas, su nombre científico es *Medicago sativa* es un cultivo que pertenece a la familia de las leguminosas, muy rica en proteína, minerales y vitaminas posee una altura que va desde los 30 a los 80 cm, con raíces profundas, tallos erectos y hojas trifoliadas, es una de las pasturas que más se utiliza en la alimentación de bovinos de leche en la zona de la sierra (Pantaleon, 2016)

Esta leguminosa tiene grandifusión a nivel de todo el mundo, mediante la obtención de información, un manejo adecuado, así como también la utilización de diferentes fertilizantes como calcio, fósforo, potasio y boro, existe un marcado aumento de la cultivación de esta especie forrajera para la alimentación de animales zootécnicos, desde la llegada de los europeos se cultiva la alfalfa en América. (Usca, 2015)

2.3. Composición química y características morfológicas.

La composición química y morfológica de la alfalfa granada mejorada se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 1: *Composición química y morfológica de la Alfalfa Granada Mejorada.*

Composición	Porcentaje
Humedad	9,9
Cenizas	10.6%
Proteína bruta	17.4%
Extracto estéreo	2.7%
Grasa verdadera (% EE)	50%

Fuente: (Animal, Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición, 2016)

2.4. Clasificación Taxonómica.

(Pombosa, 2016) manifiesta que la alfalfa presenta la siguiente clasificación:

Tabla 2: *Clasificación Taxonómica.*

Clasificación	Taxonomía
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Familia	Fabaceae
Género	Medicago
Especie	<i>M. sativa</i>
Nombre científico	<i>Medicago sativa</i> L.
Nombre común	Alfalfa

Fuente: (Pombosa, 2016)

2.5. Descripción botánica.

Según investigaciones realizadas por varios autores se describe la Alfalfa de la siguiente manera:

2.5.1. Raíces.

Son profundas y muy desarrolladas, con numerosas raíces secundarias que tienen la capacidad para la extracción de humedad de las capas más profundas.

(Sanchez, 2005) refiere que la raíz de la alfalfa es profunda y por lo tanto resiste mejor la sequía, sin embargo, si el pH es menor a cinco es perjudicial, no soporta suelos ácidos, pero si es tolerante a la salinidad.

2.5.2. Tallos.

Para (Leon, 2003), los tallos son finos, cilíndricos, verde y erguidos para sostener el peso de las hojas y flores, también son muy uniformes. En la parte superior de la raíz se encuentran todas las yemas vegetativas de donde nacen todos los tallos del primer corte, en posteriores rebrotes, los tallos pueden crecer a partir de yemas axilares, situadas en los nudos de la base del tallo. Estos pueden medir hasta 1.20 metros de altura.

2.5.3. Hojas.

(Ruiz, 2003) indica que las hojas son trifoliadas, aunque las primeras hojas verdaderas son unifoliadas, las centrales son más largas que las laterales, son verde y de aspecto ovalada. Los bordes son lisos y los superiores están ligeramente dentados.

2.5.4. Flores.

Las flores son de color purpura, con inflorescencia en los racimos que nacen en las axilas de las hojas.

(Quiroga, 2013) manifiesta que para la floración la alfalfa requiere más de doce horas de luz diarias, es decir es una planta de días largos.

2.5.5. Fruto.

Es una vaina, mismo que le atribuye el nombre de leguminosas. Es un fruto seco, alargado, presenta formas diferentes, abierto, las semillas se encuentran en una sola fila correspondiente con la condición de los óvulos en el ovario. Generalmente contiene de una a ocho semillas. (Rivera, 2022)

2.6. Producción forrajera.

El rendimiento forrajero es considerado como un producto que es necesario expresarlo en unidades de materia seca ya que un forraje puede producir gran cantidad de materia verde, pero la misma que puede llegar a estar constituida por una elevada cantidad de agua. (Arias A. , 2015)

2.6.1. Materia verde.

Se define como el número general de materia verde forrajera (agua, tallos, hojas y granos) producida en un terreno establecido. (Arias A. , 2015)

2.6.2. Materia seca.

Es la parte que queda de una muestra de pasto fresco (materia verde), ya sea hierba, ensilado, heno o fruta, de la que se ha eliminado el agua mediante secado forzado. El contenido de materia seca de un pasto cambia a lo largo del año. En épocas de otoño y invierno la planta se encuentra en situación vegetal y el contenido de materia seca varían entre el 13 - 16%. (INIA, 2020)

2.7. Característica de la calidad forrajera del forraje de la Alfalfa.

(Jhan , 2000) manifiestan que con un corte temprano en la alfalfa se pueden obtener porcentaje superior al 25%, afirmando que a medida que avanza el desarrollo del cultivo, disminuye su calidad. (Danelon, 2006), reporta valores para fibra detergente neutra con un rango de 38 a 56% y para fibra detergente alopezcida de 28 a 40%. Finalmente, para la digestibilidad in vitro, (Lopez , 2011) reportó valores del 63%.

2.8. Condiciones climatológicas y edafológicas.

2.8.1. Temperatura.

(INFOAGRO, 2008) manifiesta que las semillas de alfalfa inician a germinar a 2-3° C, hasta que las condiciones ambientales lo permitan. A medida que

incrementa la temperatura la germinación va más rápida hasta alcanzar la temperatura óptima de 28-30° C. Las temperaturas mayores a 38° C son fatales para las plantas.

2.8.2. Humedad.

Aire aproximadamente seco (por debajo de 50% de HR) día y noche durante la floración. (Forrajeras, 2002)

2.8.3. Ph.

El valor de pH ideal para este cultivo es de 7.2, siempre se utiliza encalado cuando el pH desciende de 6.8, también el encalado ayuda a aumentar la cantidad de iones de calcio disponibles para la planta y reduce la absorción de aluminio y manganeso tóxico. Existe una relación natural entre los efectos de los nódulos y el pH de la alfalfa. La bacteria noduladora de la alfalfa es *Rhizobium Meliloti*, esta especie es neutrófila y deja de reproducirse por valores menores de pH 5. (Forrajeras, 2002)

2.9. Mutagénesis.

(Kodym & Afza, 2003), denomina la mutagénesis como el productor deliberado de variación genética por métodos físicos o químicos. El uso de estos métodos causa cambios aleatorios en el ADN, y por lo tanto genes y en el organismo. En las plantas, la mutagénesis se suele aplicar a las semillas, en cultivos como el maíz se ha aplicado al polen.

El objetivo del mejoramiento por mutagénesis es lograr la mayor variación genómica con una pérdida mínima de viabilidad. Los mutágenos químicos son fáciles de usar, no requieren un equipo especial, y puede proporcionar tasas de mutación muy elevadas. (Sikora , 2011)

En la actualidad hay dos tipos de soluciones para impulsar la variación de los genes en el mejoramiento genético de plantas cultivadas. El primero es aumentar el número de mutaciones en el ADN utilizando mutágenos químicos o físicos. De

esta forman surgen nuevas mutaciones aleatorias, que luego tenemos que identificar y elegir las variantes que nos benefician. Las mutaciones inducidas son las mismas que las naturales, por lo que las variedades resultantes de mutaciones inducidas pueden registrarse como variedades típicas (Manzano , 2017)

2.10. Tipos de mutágenos.

Mutágenos químicos. – Es una sustancia química que tiene la capacidad de inducir cambios en el ADN que la alteran de forma brusca, por ejemplo, el ácido nítrógeno (agente desaminizante).

Mutágenos físicos. - Son radiaciones que provocan cambio en la estructura del ADN, por ejemplo, las sustancias radioactivas, radiación ultravioleta y la radiación gamma y alfa que son ionizantes.

Mutágenos biológicos. –Se define como u organismo vivo que pueden alterar el material genético de su huésped, por ejemplo, virus, hongos y bacterias.

2.11. Mutación inducida.

(Pacheco, 2015), da a conocer que hay un gran número de agentes que provocan mutaciones, debido a causas medioambientales notables, pueden compararse con mutaciones espontáneas, que ocurren naturalmente durante el proceso de replicación del ADN. Las sustancias que provocan mutaciones inductivas se las nombra mutágenos.

2.12. Etilmetasulfonato (EMS).

(Ortiz, 2017), manifiesta que el EMS es un éster de ácido metanosulfónico con características de mutágena. Las mutaciones que provoca son en su mayoría alquilaciones de guaninas que producen errores en la replicación del ADN polimerasa reemplaza la adición de citosina a la guanina, por timina.

La actividad en el proceso de mutación depende en gran medida del tamaño suficiente de la población resultante. Por lo tanto, se debe establecer los registros con una concentración de mutágeno y tratamiento adecuados para cada especie. Considerando que el uso de altas concentraciones de este mutágeno puede afectar la velocidad de germinación de las semillas tratadas y la fertilidad de las plantas. (Rojas, 2016)

En diferentes países, la inducción de mutaciones mediante rayos X o rayos γ es normal debido a su sencilla aplicación y alta eficiencia. Los mutágenos químicos como el EMS también podrían usarse con éxito cuando no se disponga de instalaciones con irradiación. (Harten, 1998)

2.13. Mutagénesis por Etilmetasulfonato.

El EMS es el mutágeno químico más usado en plantas para el desarrollo de diferentes poblaciones mutantes generalmente porque causan un gran número de mutaciones seguras en casi todas las especies evaluadas, además la frecuencia de mutación parece ser responsable del tamaño del genoma (McCallum et al, Greene et al, Henikoff & Comai, 2003)

En trabajos de investigación realizados por (Castillo, Martinez et al, 2015), indican que su estudio se enfocaba en cambiar las características del pigmento de las hojas, las flores y la arquitectura de plantas, usando agentes mutagénicos físicos y químicos. Se colocaron segmentos de hojas de aproximadamente 1cm de plántulas micropropagadas se colocaron en cajas Petri con medio MS líquido con pH de 5.8 suplementando con EMS al 0.2% v/v. Los explantes fueron tratados con agente químico por tiempos de: 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 150 minutos.

2.14. Impregnación con EMS.

(Pankhurst 2004 citado por Cortez 2021) manifiestan en su investigación que el EMS debe manejarse con cuidado.

- Para cada concentración de EMS (20, 30, 40, 50, 60 mM) se utilizaron 125 semillas, después se colocaron en un matraz Erlenmeyer estériles de 300 ml.
- Se agregaron 150 ml de la solución de EMS con agua desionizada estéril (v/v) a los Erlenmeyer que contenían semillas a una concentración específica. Los matraces se introdujeron a 22 °C durante 16 horas de agitación continua a 112 rpm.
- Se descartó la solución y las semillas tratadas se lavaron 10 veces con agua destilada, cada lavado se hizo por 5 minutos.
- Las semillas tratadas y las semillas testigos, se sembraron en bolsas que contenían 4 kg de sustrato (80% de materia orgánica y 20% de Zeolita) en una densidad de siembra de 5 semillas por bolsas.

2.15. Enfermedades y plagas.

El reconocimiento de las enfermedades y plagas es de vital importancia para poder manejar una producción de Alfalfa. Este control tenemos que tenerlo en cuenta durante todo el ciclo, ya que estas especies atacan en las diferentes fases del cultivo produciendo un bajo rendimiento.

2.16. Plagas.

2.16.1. Pulgones.

Son insectos pertenecientes al orden Homóptera, viven principalmente en las leguminosas verdes. Se alimenta de la savia, y, además, depositan una sustancia toxica que necrosan los tejidos de la planta produciendo marchitez, esto genera a un envejecimiento prematuro y menor valor nutritivos de las hojas.

Una planta puede tolerar hasta 100-150 pulgones por eje sin daño graves. Sin embargo, la producción de semilla de alfalfa está disminuyendo. (Artigas, 1994)

2.16.2. Gusano verde.

Es un insecto del orden coleóptero de 10 mm de longitud y ataca principalmente a la alfalfa mayormente en los primeros cortes de la primavera produciendo grandes daños. Son de color verde con una línea blanca.

La planta que es atacada por esta larva presenta los extremos de los brotes destruido por las mordeduras que le causa este gusano.

2.16.3. Trips.

Son insectos de tamaño pequeño que se nutren de la célula de la planta, y al roturar el tejido aparecerán manchas blancas en las hojas, peciolo y yemas.

Para combatir este insecto se recomienda utilizar cipermetin al 5%.

2.16.4. Mosca de la Alfalfa.

Son insectos dípteros que viven en la Alfalfa, estas moscas miden de 2mm de longitud, son de color amarillo con cabeza negra, donde las larvas son las que causan daños.

Estas larvas viven en la semilla donde atacan principalmente a las flores formando unas agallas de color rosado hasta que terminando secando la flor.

2.17. Enfermedades.

(Ruiz, 2003) Señala que existen enfermedades causadas por virus, hongos, bacterias. Pero las más comunes son:

2.17.1. Roya de Alfalfa.

Es una enfermedad de las regiones cálidas. Por lo general no conducen a la muerte de la planta, esta enfermedad disminuye y la producción y calidad de nutrición. Los síntomas son principalmente en la hoja, aparecen pústulas marrones hasta medio milímetro de diámetro, las hojas se vuelven amarillas y caen gradualmente. Para esto se produce un corte precoz. (Galarza, 2014)

2.17.2. Pecas (*Pseudopeziza medicaginis*).

Para (Mundopecuario, 2015) causan manchas marrones redondas en las hojas de alfalfa, seguidas de la defoliación de la planta.

Para el control de esta enfermedad se debe cortar la alfalfa prematuramente durante la etapa de lluvia.

2.17.3. Mildio de la Alfalfa.

Es una enfermedad de mucho peligro en los cultivos de alfalfa. Se localiza en el tallo y los folíolos van cambiando a un color amarillento tomando un aspecto aterciopelado con color grisáceo. Esta enfermedad se desarrolla en temperaturas húmedas.

2.17.4. Viruela de las hojas.

(Produccion Animal, 2018) manifiesta que esta enfermedad ataca especialmente a las plantas jóvenes y las partes que están extendidas (las hojas inferiores). Presenta síntomas como manchas marrones redondas en las hojas. Para los cultivos establecidos el corte debe ser avanzado se deberá adelantar el corte y su riego debe ser muy escaso.

Materiales y métodos

3.1. Características del área de estudio

El presente trabajo de investigación experimental se lo efectuó en los predios de la Facultad Ciencias Agropecuaria en la Universidad Técnica de Babahoyo, que se encuentra ubicada en el km 7,5 de la vía Babahoyo – Montalvo, presentando coordenadas geográficas en UTM fueron X: 669 097,17; Y: 9'801 368,24, a una altitud de 8 metros sobre el nivel del mar (msnm). La región presenta un clima tropical húmedo, con una temperatura promedio de 24 y 26 °C, con una humedad relativa del 88%. (INAMHI, 2022)

3.2. Materiales.

Los materiales que se utilizaron en este trabajo experimental fueron:

- Botas
- Traje de bioseguridad
- Cámara de Flujo laminar.
- Fundas plásticas.
- Libreta de registro.
- Químico (etilmetasulfonato).
- Materiales de laboratorio (probeta, vaso de precipitación, pesa electrónica)
- Pala.
- Azadón.
- Rastrillo.
- Semillas.
- Fundas de papel
- Termómetro.
- Fertilizantes
- Regaderas
- Guantes.

3.3. Métodos.

Se utilizaron los siguientes métodos:

- Inductivo- deductivo
- Deductivos - Inductivos
- Método experimental.

3.4. Factores de estudio.

Números de semillas germinadas a una temperatura promedio

Altura, diámetro de tallo, número de ramas y número de hojas que presentara la planta de Alfalfa.

Comportamiento de la Alfalfa Granada mejorada sembrada en campo.

3.5. Metodología de trabajo.

El estudio se realizó con 300 gr semillas de Alfalfa Granada mejorada que fueron impregnadas con etilmetasulfonato (EMS), se sembraron las semillas en el vivero y terreno de prueba que se observaron diariamente para determinar su índice de germinación y adaptabilidad en cada uno de los tratamientos.

3.6. Tratamientos.

La composición experimental es la siguiente.

Tabla 3: Porcentaje de concentración de los tratamientos.

Tratamientos	Dosis de EMS
T1 (Testigo)	0,00 %
T2	0,25 %
T3	0,50 %
T4	0,75 %
T5	1,00 %

Tratamientos.

T1 Semillas de alfalfa más agua destilada (testigo)

T2 Semillas de alfalfa con dosis de 0,25% de EMS más agua destilada.

T3 Semillas de alfalfa con dosis de 0,50% de EMS más agua destilada.

T4 Semillas de alfalfa con dosis de 0,75% de EMS más agua destilada.

T5 Semillas de alfalfa con dosis de 1,00% de EMS más agua destilada.

3.7. Diseño experimental.

En base a los tratamientos y variables de estudio se aplicó un diseño completamente aleatorizado (DCA) utilizando 5 tratamientos y 3 repeticiones.

Modelo Estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable de respuesta de la ij -ésima unidad experimental.

μ = Efecto de la media general.

t_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la i -ésima unidad experimental.

3.7.1. Análisis de varianza.

Tabla 4: Análisis de varianza.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	
Tratamiento	$t - 1$	4
Error Experimental	$t (r - 1)$	10
Total	$t.r - 1$	14

3.8. Manejo del ensayo.

Durante el ensayo experimental se realizaron las siguientes labores:

3.8.1. Impregnación de semillas.

Se lo realizó en el laboratorio de la facultad de Ciencias Agropecuaria. Las semillas fueron inducidas con etilmetasulfonato (EMS) dentro de la maquina flujo laminar, después se efectuó el enjuague de la semilla para luego ser sembradas en el terreno de prueba.

3.8.2. Preparación del terreno.

Para la siembra del cultivo de la alfalfa el terreno debe estar en buenas condiciones para esto se realizó las siguientes labores:

La preparación del terreno se realizó con la ayuda del azadón y la pala se procedió a remover las piedras, restos vegetales, para proceder a realizar los surcos con el fin de reducir la velocidad de escurrimiento superficial para provocar una mayor infiltración de agua en el suelo y aumentar la humedad disponible para la planta.

3.8.3. Siembra.

Antes de realizar la siembra se procedió a regar el terreno. Posteriormente se realizó la siembra de la variedad de alfalfa granada mejorada en cada uno de los surcos, con distanciamiento de siembra de 0,40 x 0,30 cm y 0,5 cm de profundidad según la literatura.

3.8.4. Riego.

La labor de riego se la efectuó de manera manual, realizando dos riesgos por día, uno en la mañana y otro en la tarde.

3.8.5. Fertilización.

Se aplicó los fertilizantes según los requerimientos nutricionales del cultivo, la fuente de fertilización utilizada fue un abono completo 8 -20 – 20 y urea 46 %

3.8.6. Control de malezas.

El control de maleza fue de manera manual mediante el empleo de un machete, como herramienta adecuada para la deshierba que se realizó durante el ciclo del cultivo.

3.8.7. Cosecha.

Se realizó de forma manual la recolección de la semilla en cada uno de los tratamientos.

3.9. Datos a evaluar.

3.9.1. Índice de germinación.

Todos los días se procedió a la debida inspección y conteo del número de plantas que han germinado en cada uno de los tratamientos del ensayo.

3.9.2. Altura de la planta.

Para obtener la altura de la planta consideramos la medida con una regla desde el suelo hasta la punta de la última hoja, en 5 plantas tomadas al azar en cada tratamiento. El resultado se lo registro en cm.

3.9.3. Diámetro de tallo.

Para calcular el diámetro de tallo se mide la parte tercia del tallo de la planta, para esto utilizaremos un calibrador. El valor se lo expresara en cm.

3.9.4. Número de ramas.

Se contó el número de ramas desde la base hasta la última rama de la planta. El resultado se lo expresara en cm.

3.9.5. Número de hojas.

Se contó el número de hojas por cada planta de Alfalfa Granada Mejorada. El resultado se lo expresara en cm.

RESULTADO.

Altura de la planta (semana 1).

Según el análisis de varianza en esta semana se pudo observar que si hubo diferencia altamente estadística entre los tratamientos con un coeficiente de variación de 12,92 %. (Ver en anexo 1)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, numéricamente el T4 (0,75 % EMS + agua) alcanzó la mayor altura con 19,70 cm, mientras que el de menor altura fue el T5 (1,00 % EMS + agua) con 10,63 cm. (Ver tabla 5, gráfico 1).

Altura de planta (semana 2).

En la semana dos el análisis de varianza demuestra que si existe diferencia altamente estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 9,66 %. (Ver en anexo 2)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 4 (0,75 % EMS + agua) fue el que mostro mayor altura con 27 cm, mientras que el de menor altura fue el Tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 16,87 cm. (Ver tabla 5, gráfico 1).

Altura de planta (semana 3).

El análisis de varianza en la tercera semana se observó que si hubo diferencia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,69 % (Ver en anexo 3)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, en donde se pudo visualizar que el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) fue el que mostro mayor altura con 27,57

cm, mientras que el de menor altura fue el Tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 18,6 cm. (Ver tabla 5, gráfico 1).

Altura de planta (semana 4).

A la cuarta semana se midió la altura de la planta considerando desde la base al nivel de tierra hasta el extremo superior del apéndice de la planta. El análisis de varianza en esta variable presentó diferencia altamente estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 16,71 %. (Ver en anexo 4)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, en donde se pudo visualizar que el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) fue el que presentó mayor altura con 37,6 cm, mientras que el de menor altura fue el Tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 18,33 cm. (Ver tabla 5, gráfico 1).

Tabla 5: Altura de plantas sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.

ALTURA DE PLANTA				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	14,93	18,07	21,6	26,87
0.25% EMS	16,53	21,47	27,4	31,53
0.50% EMS	18,7	22,33	27,57	37,6
0.75% EMS	19,7	27	26,6	36,8
1.00% EMS	10,63	16,87	18,6	18,33
CV (%)	12,92	9,69	13,99	16,71
Significancia	**	**	*	**

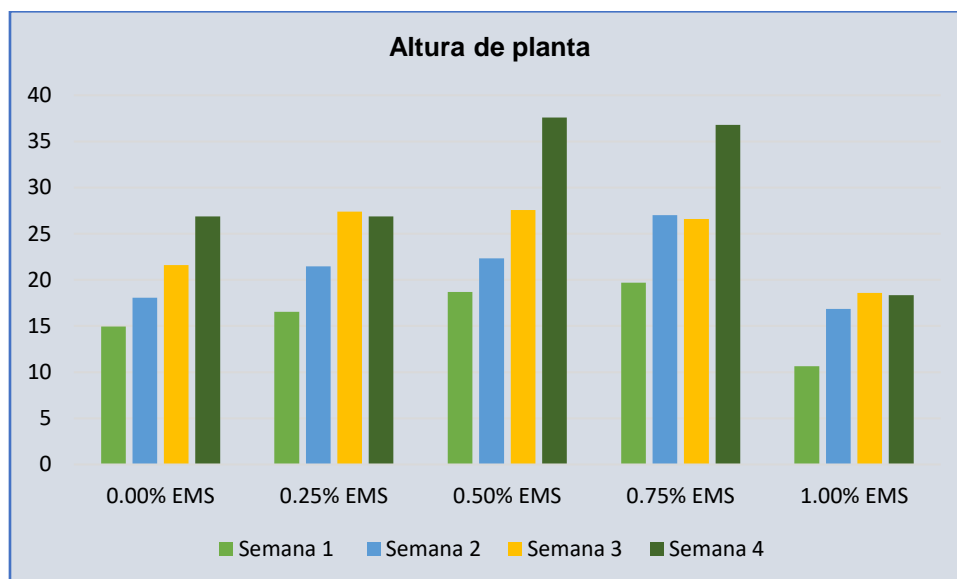
Las medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

NS= No significativo.

*= significativo.

**= altamente significativo.

Gráfico 1: Altura de plantas por semanas.



Elaborado: Villasagua 2023

Diámetro de tallo (semana 1).

En el análisis de varianza para la variable diámetro se pudo observar que no existió diferencia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 34,86 %. (Ver en anexo 5)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, numéricamente el tratamiento 4 (0,75 % EMS + agua) alcanzó el mayor valor con 0,20 cm, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 1 (testigo) con 0,11 cm. (Ver tabla 6, gráfico 2)

Diámetro de tallo (semana 2).

El diámetro de tallo en la segunda semana desarrollo se pudo observar en el análisis de varianza que presentó diferencia altamente significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 20,08 % (Ver en anexo 6)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 2 (0,25 % EMS +

agua) alcanzó el mayor diámetro del tallo con 0,25 cm, mientras que el de menor valor fue el testigo 1 (testigo) con 0,13 cm. (Ver tabla 6, gráfico 2)

Diámetro de tallo (semana 3).

En la tercera semana según en el análisis de varianza se pudo observar que no hubo diferencia significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 30,1 % (Ver en anexo 7)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 4 (0,75 % EMS + agua) alcanzó el mayor diámetro del tallo con 0,24 cm, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) con 0,13 cm. (Ver tabla 6, gráfico 2)

Diámetro de tallo (semana 4).

Según en el análisis de varianza el diámetro de tallo a esta semana presentó diferencia altamente significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 16,32% (Ver en anexo 8)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) alcanzó el mayor valor con 0,25 cm, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 0,11 cm. (Ver tabla 6, gráfico 2).

Tabla 6: Diámetro del tallo sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.

DIAMETRO DEL TALLO				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	0,11	0,13	0,15	0,14
0.25% EMS	0,15	0,25	0,23	0,15
0.50% EMS	0,15	0,15	0,15	0,25
0.75% EMS	0,2	0,16	0,24	0,22
1.00% EMS	0,17	0,13	0,17	0,11

CV (%)	34,86	20,08	30,1	16,32
Significancia	NS	**	NS	**

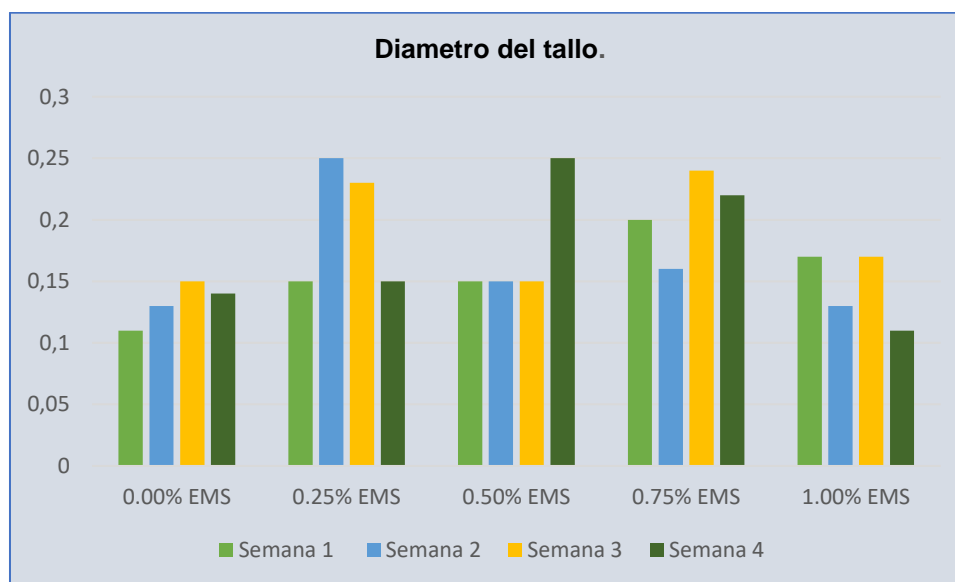
Las medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

NS= No significativo.

*= significativo.

**= altamente significativo.

Gráfico 2: Diámetro del tallo por semana.



Elaborado: Villasagua 2023

Número de ramas (semana 1).

En el análisis de varianza se pudo observar en esta semana que no hay diferencia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 23,39%. (Ver anexo 9)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, numéricamente el tratamiento 1 (testigo) alcanzó el mayor número de ramas con 6,53, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 2 (0,25 % EMS + agua) con 4,20 ramas. (Ver tabla 7, gráfico 3)

Número de ramas (semana 2).

Según el análisis de varianza en la segunda semana demuestra que no hay diferencia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 12,29 %. (Ver anexo 10)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, numéricamente el tratamiento 1 (testigo) alcanzó el mayor número de ramas con 7,27, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 5,6 ramas. (Ver tabla 7, gráfico 3)

Número de ramas (semana 3).

En el análisis de varianza se demostró que si hubo diferencia significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 33,31%. (Ver anexo 11)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 4 (0,75 % EMS + agua) alcanzó el mayor número de ramas con 13,73, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 5,6 ramas. (Ver tabla 7, gráfico 3)

Número de ramas (semana 4).

Según el análisis de varianza en la semana cuatro se pudo observar diferencia altamente significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 16,48%. (Ver anexo 12)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) alcanzó el mayor número de ramas con 25,27 cm, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 4,8. (Ver tabla 7, gráfico 3)

Tabla 7: Número de ramas sometidas a diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semana.

NÚMERO DE RAMAS.				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	6,53	7,27	7,2	8,53
0.25% EMS	4,2	6,53	12,87	12,27
0.50% EMS	4,47	6,33	6	25,27
0.75% EMS	4,8	6,6	13,73	17,2
1.00% EMS	5,93	5,6	5,6	4,8
CV (%)	23,39	12,29	33,31	16,48
Significancia	NS	NS	*	**

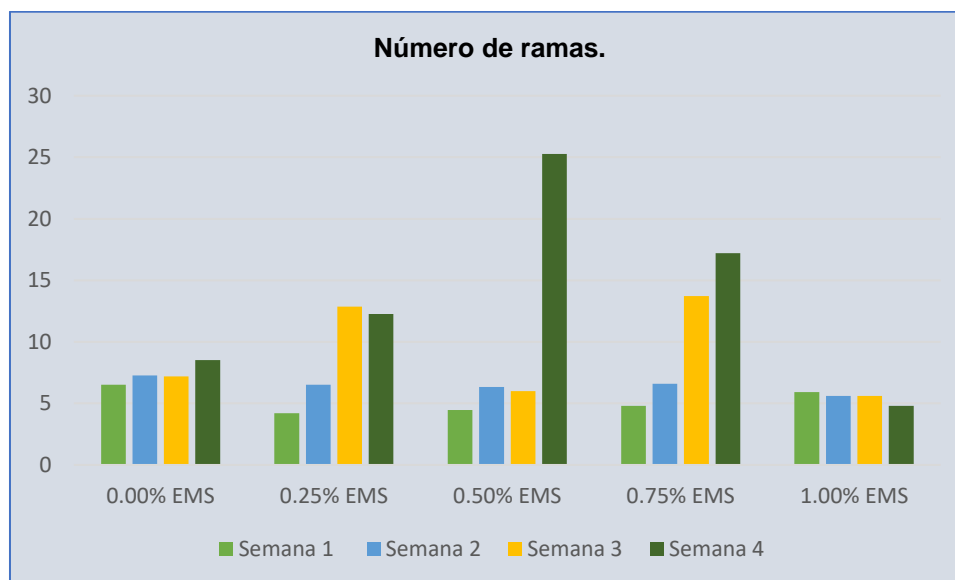
Las medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

NS= No significativo.

*= significativo.

**= altamente significativo.

Gráfico 3: Número de ramas por semana.



Elaborado: Villasagua 2023

Número de hojas (semana 1)

En el análisis de varianza se pudo observar que no hay diferencia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 23,39% (Ver anexo 13)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, numéricamente el tratamiento 1 (testigo) alcanzó el mayor número de hojas con 19,60, mientras que el de menor hojas fue el tratamiento 2 (0,25 % EMS + agua) con 12,60 (Ver tabla 8, gráfico 4).

Número de hojas (semana 2)

A la segunda semana se midió el número de hojas de las plantas mostrándose diferencias no significativas para los tratamientos con un coeficiente de variación de 12,29% (Ver anexo 14)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, no se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 1 (testigo) alcanzó el mayor número de hojas con 21,8, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 16,8 hojas (Ver tabla 8, gráfico 4).

Número de hojas (semana 3)

Según el análisis de varianza en la semana tres se pudo observar diferencia significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 33,31% (Ver anexo 15)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 4 (0,75 % EMS + agua) alcanzó el mayor número de hojas con 41,2 mientras que el de menor números de hojas presentó fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 16,8 hojas (Ver tabla 8, gráfico 4).

Número de hojas (semana 4)

En esta semana el análisis de varianza mostro que existe una diferencia estadística altamente significativa para los tratamientos con un coeficiente de variación de 16,48% (Ver anexo 16)

Realizada la prueba de Tukey con el 5 % de probabilidad, se encontró diferencia estadística en las medias de los tratamientos, el tratamiento 3 (0,50 % EMS + agua) alcanzó el mayor número de hojas con 75,8, mientras que el de menor valor fue el tratamiento 5 (1,00 % EMS + agua) con 14,4 hojas (Ver tabla 8, gráfico 4).

Tabla 8: Número de hojas sometida s diferentes concentraciones de EMS, evaluadas por semanas.

NÚMERO DE HOJAS.				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	19,6	21,8	21,6	25,6
0.25% EMS	12,6	19,6	38,6	36,8
0.50% EMS	13,4	19	18	75,8
0.75% EMS	14,4	19,8	41,2	51,6
1.00% EMS	17,8	16,8	16,8	14,4
CV (%)	23,39	12,29	33,31	16,48
Significancia	NS	NS	*	**

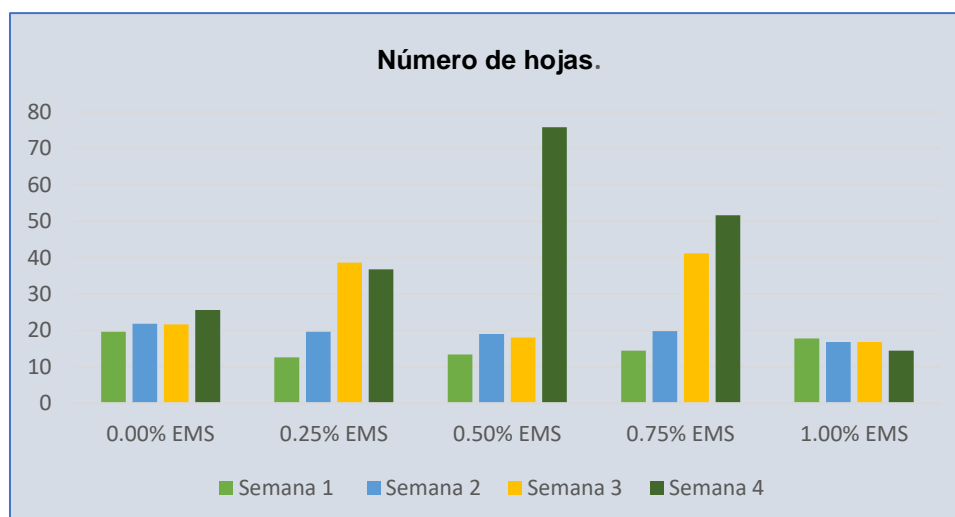
Las medias con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

NS= No significativo.

*= significativo.

**= altamente significativo.

Gráfico 4: Número de hojas por semana.



Elaborado: Villasagua 2023

Índice de germinación.

Según el análisis de varianza para la germinación promedio de plántulas de alfalfa se puede observar que no hubo significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 63,79% (Ver anexo 17).

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, no se encontró diferencia estadística, numéricamente T4 (0,75 % de EMS) alcanzo el mayor porcentaje de germinación con 50% mientras que el T2 (0,25 % de EMS + agua) alcanzó tan solo 33,33%.

DISCUSION.

Dentro de los datos analizados las concentraciones que lograron mayor altura fueron T3 (0.50 % de EMS) con valor de 37,6 cm, y el T4 (0,75 % de EMS) con un valor de 36,8 cm mientras que el T5 (1,00 % de EMS) tuvo plantas de menor altura con 18,33 cm. en las últimas semanas. Según lo expuesto por Mestanza (2019), en las variaciones numéricas en la altura a los 30 días de la Teca, puede ser un indicador del efecto del agente mutagénicos, ya que es claro que la altura tiende a disminuir a medida que aumenta la dosis de EMS. Por otro lado, en cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum* L) Kumar & Pandey (2020) indicaron que la altura de la planta disminuyo al aumentar la dosis de EMS, al igual que con tratamientos con 3 y 5 h de duración provocaron una disminución en la altura de la planta.

El diámetro del tallo evaluado por diferentes semanas demuestra que la medida va cambiando cómo va el tiempo siendo condicionada por las diferentes concentraciones de EMS el tratamiento 3 (0,50 % de EMS) alcanzó el mayor valor con 0,25 cm, mientras que el tratamiento 5 (1,00 % de EMS) obtuvo el menor diámetro con 0,11 cm., tal como lo expresa en su experimento Mestanza (2019), el efecto de las dosis de EMS, sobre el diámetro del tallo a los 30 días después de la aplicación a la Teca muestra que el EMS no afecta la variable relacionada con el crecimiento del diámetro en este cultivo al menos en la etapa de plántula, a pesar que existe una tendencia a reducir a medida que la dosis de EMS aumenta.

Los resultados obtenidos en número de ramas tratadas con diferentes concentraciones de EMS (entre 0,00 a 1,00 %), encontrándose diferencia significativa en la última semana. La dosis que presentaron mejor resultado fueron el tratamiento T3 (0,50 %) con un promedio de 10,51 ramas y T4 (0,75 %) con un promedio de 10,58 ramas, mientras que el T5 (1,00 %) con mayor concentración de dosis presentó menor número de ramas con un promedio de 5,48. Por otra parte, el estudio investigativo de Rojas, Rivero, & Ocaña (2016), menciona que la variabilidad morfológicas en el número de ramas redujeron cuando las concentraciones de este agente mutagénico aumentaron de 50 y 60,

esto debió por la baja supervivencia de las plantas incluidas en los tratamientos mencionados.

Dentro de la variable número de hojas existió diversas variaciones por semana por cada tratamiento siendo el T3 (0,50 % de EMS) con 75,8 y el T4 (0,75 % de EMS) con 51,6 hojas que obtuvieron mejor promedio, los tratamientos Testigo (0,00% de EMS) con 25,6 y el T5 (1,00 % de EMS) con 14,4 lograron un menor número de hojas. Según (Contreras, 2019) Las emisiones foliares se ven afectadas por las dosis y horas de saturación de EMS aplicado en el pasto janeiro, lo que reduce el número de hojas.

El porcentaje de germinación de las semillas expuesta en distintas dosis de EMS no presentó diferencia significativa entre los tratamientos el T4 (0,75 %) logró un promedio del 50,00 % de plantas germinadas, seguida del testigo (0,00 %) con 40,00% y las dosis de 0,25 %; 0,50 % Y 1,00 % obtuvieron menor germinación con el 33,33 % respectivamente. Según (Porch, 2009), el porcentaje de germinación, fue una variable importante para determinar la dosis de EMS para implantar poblaciones de mutantes. A medida que aumenta la concentración de EMS el porcentaje de germinación se ve afectado, llegando incluso a prolongar las fases de crecimiento. (Ruiz A. , 2012) en su investigación manifiesta que el porcentaje de germinación de las semillas expuestas a las distintas concentraciones de EMS durante 12 horas fue en todos los casos superior al 95 %, con independencia de la concentración de EMS, no encontrándose diferencias entre los valores obtenidos para el testigo y los tratamientos.

CONCLUSIONES.

Las plantas de Alfalfa granada mejorada principalmente se vieron favorecida con la aplicación de dosis (0,50 %) y (0,75 %) mostrando mejor resultado. En dosis de (0,25) y (0,00) existieron resultados menores y en concentraciones elevadas de EMS (1%) existe una negatividad sobre el desarrollo de la planta.

La aplicación de EMS no mostraron diferencia estadística en el índice de germinación de las semillas la dosis con 0,75 % de EMS mostro mayor germinación, mientras que en concentraciones bajas (0,25 %) y (0,50 %) existe un menor número de germinación.

El Etilmetasulfonato si influyo en las variaciones fenotípicas de la planta donde el tratamiento T3 con dosis de 0,50 % logró mantener el mejor comportamiento morfológico en las últimas semanas, en donde las variables altura de planta, numero de ramas y números hojas obtuvieron un mayor desarrollo.

RECOMENDACIONES.

Establecidas las conclusiones de esta investigación se recomienda:

Realizar nuevos ensayos en las dosis establecidas de EMS y la misma variedad de semillas y analizar su comportamiento morfológico a través del tiempo establecido.

Efectuar más investigaciones sobre el uso de Etilmetasulfonato (EMS) en cultivos de alfalfa en la región costa, y determinar el efecto de la planta en diferentes dosis de EMS.

En lo referente a la germinación de semillas de Alfalfa Granada Mejorada se propone realizar ensayos en donde las concentraciones de EMS no sean superiores a 0,75% para establecer la influencia en la germinación de la semilla.

Con la investigación realizada se recomienda utilizar la dosis de 0,50 % EMS, ya que logro obtener los mejores resultados en las últimas semanas.

RESUMEN

La Alfalfa Granada Mejorada es una leguminosa con gran difusión al nivel de todo el mundo, existe un marcado aumento de la cultivación de esta especie forrajera para la alimentación de animales zootécnicos. La inducción de mutagénesis en semillas es un método eficaz para lograr variaciones dentro de un tipo de cultivo tanto en la germinación como en la planta. La finalidad de la mutagénesis es causar máxima variación genómica que provoque cambios en el ADN de la semilla. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la caracterización morfológica de Alfalfa Granada Mejorada inducida mediante etilmetasulfonato (EMS). La mutagénesis por etilmetasulfonato es el mutágeno más utilizado que se enfoca en modificar las características de las plantas. La investigación se realizó en los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Técnica de Babahoyo. Se utilizó la metodología diseño experimental, las semillas fueron impregnadas con etilmetasulfonato, y sembradas en bandejas y terreno de prueba para determinar su germinación y adaptabilidad. La información fue analizada mediante un diseño completamente aleatorizado con cinco tratamientos (T1: Testigo (Agua), T2: 0,25 % EMS, T3:0,50% EMS, T4: 0,75% EMS Y T5: 1,00 % EMS) en tres repeticiones. Se evaluó el comportamiento agronómico que presento el cultivo de Alfalfa impregnada con diferente dosis, para esto se tomaron datos como índice de germinación, altura de la planta, diámetro de tallo, número de ramas y número de hojas. Los resultados fueron sometidos al análisis de varianza en el programa estadístico InfoStat, y demostraron que tanto la germinación de semillas sembradas en campo y en bandejas germinadoras presentaron el mismo comportamiento.

Palabras claves: Alfalfa Granada Mejorada, Mutagénesis, Etilmetasulfonato, Germinación, Inducida.

SUMMARY

The Improved Granada Alfalfa is a legume with great diffusion worldwide, there is a marked increase in the cultivation of this forage species for feeding zootechnical animals. The induction of mutagenesis in seeds is an effective method to achieve variations within a type of crop both in germination and in the plant. The purpose of mutagenesis is to cause maximum genomic variation that causes changes in the DNA of the seed. The objective of this study was to evaluate the morphological characterization of Improved Alfalfa Pomegranate induced by ethylmetasulfonate (EMS). Ethylmetasulfonate mutagenesis is the most widely used mutagen that focuses on modifying plant characteristics. The research was carried out on the premises of the Faculty of Agricultural Sciences at the Technical University of Babahoyo. The experimental design methodology was used, the seeds were impregnated with ethylmetasulfonate, and sown in trays and test ground to determine their germination and adaptability. The information was analyzed using a completely randomized design with five treatments (T1: Control (Water), T2: 0.25% EMS, T3: 0.50% EMS, T4: 0.75% EMS and T5: 1.00% EMS) in three repetitions. The agronomic behavior of the alfalfa culture impregnated with different doses was evaluated, for this, data such as germination index, plant height, stem diameter, number of branches and number of leaves were taken. The results were subjected to the analysis of variance in the InfoStat statistical program, and demonstrated that both the germination of seeds sown in the field and in germinating trays presented the same behavior.

Keywords: Improved Alfalfa Pomegranate, Mutagenesis, Ethylmetasulfonate, Germination, Induced.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Animal, Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion. (2016).
- Arias. (2015). Estudio comparativo de la producción de forraje y calidad nutricional de variedades de cultivo de Alfalfa en la sierra central. http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/599/1/T026_46559845_T%20-%20T026_44476754_T.pdf.
- Arias, A. (2015). Rendimiento forrajero y valor nutritivo de dos variedades de avena sativa (Criolla y Mantaro-15), en la sierra central del Perú. Revista de Investigacion e Inovacion Agropecuaria y de Recursos Naturales, http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2409-16182021000200054&script=sci_arttext.
- Artigas. (1994). Plagas de Alfalfa. obtenido de: <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/3667/NR25675.pdf?sequence=7&isAllowed=y>.
- Capelo. (2009). Respuesta del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) a la incorporación orgánica en fincas de pequeños productores. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2581/1/T-UTC-00118.pdf>
- Castillo, Martinez et al. (2015). Mejoramiento genetico por mutagenesis. repositorio de Doctorado en Ciencias Biologicas, obtenido de: http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/6226/FB-D-2018-1177.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Contreras, C. (2019). Comportamiento agronomico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) con la aplicacion de nitrogeno en el canton Babahoyo. Tesis de grado Ingenieria Agronomo, <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6678/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000208.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Cortez. (2021). Mutagenesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etilmetasulfonato y su efecto sobre el control de *Mahanarva andigena* bajo condicion de invernadero. dspace, <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10070/C-UTB-CEPOS-MPV-000001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- Dammer. (2004). Evaluacion de cuatro variedades de Alfalfa. repositorio, Obtenido de: <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/3929/ZOOT-MEL-NEI-2022.pdf>.
- Danelon. (2006). La alfalfa (*Medicago sativa*):origen, manejo y produccion. articulo de revision, Buenos Aires, file:///C:/Users/User1/Downloads/admin,+Art.+2+La+alfalfa-ilovepdf-compressed+(1)%20(1).pdf.
- ESPAC. (2020). "Evaluación de la adaptabilidad de variedades de alfalfa. obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream>. pdf.
- Forrajeras. (2002). <http://www.mejorpasto.com.ar>.
- Galarza. (2014). "Evaluación de dos niveles de fertilización mas dos tipos de tutoreo y tres dosi de Etephon para igualar la maduracion de la semilla de Alfalfa . <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2581/1/T-UTC-00118.pdf>.
- Gomez, L., Romero, & Jimenez, J. (1999). Cuarto congreso Peruano de mejoramiento genetico y biotecnologia agricola. La Molina, Lima - Peru, 2019: Libro de memorias.
- Harten, V. (1998). Induccion mutagenica en cultivares de *Eustoma grandiflorum* mediante el uso de EMS. repositorio, <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/746/1/Rafael%20Mendoza%20G%C3%B3mez%20Bio.pdf>.
- INAMHI. (2022). Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Ecuador: Datos metereologicos.
- INFOAGRO. (2008). Cultivos de alfalfa. <https://infoagro.com/herbaceos/forrajes/alfalfa.htm>.
- INIA. (2020). Conceptoo de materia seca y su uso. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/3982/Informativo%20INIA%20N%C2%B0%20119?sequence=1&isAllowed=y>.
- Jhan (2000). Comportamiento productivo de alfalfa (*medicago sativa*) a diferente edad de cosecha en la estacion e primavera. repositorio, <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/47408/pdf>.

- Kodym & Afza. (2003). Aplicacion de distintas dosis de etilmetasulfonato (EMS) en semillas y plantulas de *Gmelina arborea Roxb.* (melina) en etapa de vivero. repositorio, obtenido de: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6404/1/T-UTEQ-023.pdf>.
- Kumar, & Pandey. (2020). El metasulfonato de etilo indujo cambios en los aspecto citomorfológico y bioquímico de *coradium sativum* L. Revista de la Sociedad Saudita de Ciencias Agrícolas., <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X17303673?via%3Dihub>.
- Leon. (2003). repositorio. Determinacion de las etapas fenologicas del cultivo de Alfalfa (*medicago sativa*) var. morada, obtenido de: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/19819/1/pdf>.
- Lopez (2011). Evaluacion de diferentes niveles de vinaza aplicados basalmente en la produccion forrajera del *medicago sativa* (alfalfa). repositorio, <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/1019/1/17T01046.pdf>.
- Manzano . (2017). Comportamiento agronomico de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) con la aplicacion de nitrogeno en el canton Babahoyo. Tesis de grado, <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10070/C-UTB-CEPOS-MPV-000001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- McCallum, Greene, Henikoff & Comai. (2003). Aplicacion de distintas dosis de etilmetasulfonato (EMS) en semillas y plantulas. repositorio, obtenido de: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6404/1/T-UTEQ-023.pdf>.
- Mestanza. (2019). Efecto de la concentracion de etil metano sulfonato (EMS) en el comportamiento agronomico de plantulas de teca (*tectona grandis* L.f.) en etapa de vivero, año 2019. repositorio, obtenido de: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6400/1/T-UTEQ-19.pdf>.
- Mundopecuario. (2015). Edicion Pasto y forrajes. obtenido de: https://mundopecuario.com/tema195/enfermedades_pastos/peca-1097.html.
- Ortiz. (2017). Induccion mutagenica en cultivares de *eustoma grandiflorum* mediante el uso de metanosulfato de etilo. repositorio institucional, obtenido de: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/746/1/Rafael%20Mendoza%20G%C3%B3mez%20Bio.pdf>.

- Pacheco. (2015). Inducción mutagenica en cultivares de *Eustoma glandiflorum* mediante EMS. repositorio institucional, <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/746/1/Rafael%20Mendoza%20G%C3%B3mez%20Bio.pdf>.
- Pankhurst. (2004). Mutagenesis inducida en *Eriochloa polystachya* mediante etilmetasulfonato bajo condiciones de invernadero. repositorio, <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10070/C-UTB-CEPOS-MPV-000001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Pantaleon. (2016). Instalación y manejo de la alfalfa en zonas altoandinas. obtenido de : <https://docplayer.es/91011978-Instalacion-y-manejo-de-la-alfalfa-en-zonas-altoandinas.html>.
- Polanco. (2014). Aplicación de distintas dosis de etilmetanosulfonato (EMS) en semillas . repositorio, obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6404/1/T-UTEQ-023.pdf>.
- Pombosa. (2016). La importancia de cultivar la alfalfa a través de las prácticas de producción. repositorio, obtenido de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/pdf>.
- Porch. (2009). Generación de una Población Mutante para TILLING Genotipo de Frijol Común BAT 93. Revista de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas, Obtenido de: https://journals.ashs.org/search?f_0=author&q_0=Matthew+W.+Blair.
- Produccion Animal. (2018). Enfermedades de la Alfalfa. Obtenido de Sitio Argentino: obtenido de: https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_alfalfa/15-enfermedades_alfalfa.pdf
- Quiroga. (2013). Parametros geneticos, rendimiento y calidad forrajera en alfalfa. repositorio, Obtenido del repositorio: https://inta.gob.ar/sites/default/files/tesis_doctoral_ariel_odorizzi.pdf.
- Ramirez. (2015). Evaluacion de la adaptabilidad de variedades de Alfalfa. repositorio, obtenido de: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/12620/2/03.pdf>.
- Rivera. (2022). Evaluacion de la adaptabilidad de variedades de Alfalfa (*medicago sativa*) en Ibarra. Tesis de grado, obtenido

- de:<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/12620/2/03%20AGP%20335%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>.
- Rojas. (2016). Aplicación de distintas dosis de etilmetanosulfonato (EMS) en semillas y plantulas. Repositorio, obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6404/1/T-UTEQ-023.pdf>.
- Rojas, L., Rivero, L., & Ocaña, B. (2016). Concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en *Phaseolus vulgaris* L. para inducir variaciones fenotípicas. Biotecnología vegetal, <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/526/html>.
- Ruiz. (2003). Repuesta del cultivo de alfalfa (*medicago sativa*) a la incorporacion organica en fincas pequeñas. dspace, obtenido de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6711/1/UPS-YT00005.pdf>.
- Ruiz, A. (2012). Estudio preliminar para el desarrollo de una coleccion de mutantes en calabacin (*Cucurbita pepo*). Tesis de Ingeniero Agronomo. , Universidad de Almería Escuela Politécnica Superior.
- Sanchez. (2005). Efecto del abono orgánico del cuy en el rendimiento de masa foliar de 5 variedades de alfalfa. repositorio, obtenido de: http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/2817/1/T026_76598760_T.pdf.
- Sikora . (2011). Jornadas de ciencias y tecnologías, Facultad Ciencias Agrarias. Texto, <file:///C:/Users/User1/Downloads/33-Texto%20del%20art%C3%ADculo-293-1-10-20220914.pdf>.
- Usca. (2015). Forrajes, fertilizantes y valor nutritivo. AEDOS 2da edicion España, <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1119&context=zootecnia>.

ANEXOS

Anexo 1: Altura de plantas de alfalfa granada mejorada (semana 1).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,78	0,69	12,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	153,46	4	38,37	8,86	0,0025
MUTAGENO QUIMICO	153,46	4	38,37	8,86	0,0025
Error	43,28	10	4,33		
Total	196,74	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,59032

Error: 4,3280 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Media	n	E.E.		
0.75% EMS	19,70	3	1,20	A	
0.50% EMS	18,70	3	1,20	A	
0.25% EMS	16,53	3	1,20	A	
0.00% EMS	14,93	3	1,20	A	B
1.00% EMS	10,63	3	1,20		B

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

Anexo 2: Altura de plantas de alfalfa granada mejorada (semana 2).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,82	0,75	9,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	190,73	4	47,68	11,35	0,001
MUTAGENO QUIMICO	190,73	4	47,68	11,35	0,001
Error	42,03	10	4,2		
Total	232,76	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,50878

Error: 4,2027 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.75% EMS	27	3	1,18	A	
0.50% EMS	22,33	3	1,18	A	B
0.25% EMS	21,47	3	1,18		B
0.00% EMS	18,07	3	1,18		B
1.00% EMS	16,87	3	1,18		B

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

Anexo 3: Altura de plantas de alfalfa granada mejorada (semana 3).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,63	0,48	13,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	196,01	4	49	4,22	0,0294
MUTAGENO QUIMICO	196,01	4	49	4,22	0,0294
Error	116,01	10	11,6		
Total	312,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,15239

Error: 11,6007 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.50% EMS	27,57	3	1,97	A
0.25% EMS	27,4	3	1,97	A
0.75% EMS	26,6	3	1,97	A
0.00% EMS	21,6	3	1,97	A
1.00% EMS	18,6	3	1,97	A

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

Anexo 4: Altura de plantas de alfalfa granada mejorada (semana 4).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,75	0,65	16,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	756,07	4	189,02	7,41	0,0048
MUTAGENO QUIMICO	756,07	4	189,02	7,41	0,0048
Error	255,2	10	25,52		
Total	1011,27	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=13,57480

Error: 25,5200 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	37,6	3	2,92	A	
0.75% EMS	36,8	3	2,92	A	
0.25% EMS	31,53	3	2,92	A	B
0.00% EMS	26,87	3	2,92	A	B
1.00% EMS	18,33	3	2,92		B

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

Anexo 5: Diámetro de tallo (semana 1).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,32	0,05	34,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	3,4E-03	1,18	0,3771
MUTAGENO QUIMICO	0,01	4	3,4E-03	1,18	0,3771
Error	0,03	10	2,9E-03		
Total	0,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14487

Error: 0,0029 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.75% EMS	0,20	3	0,03	A
1.00% EMS	0,17	3	0,03	A
0.25% EMS	0,15	3	0,03	A
0.50% EMS	0,15	3	0,03	A
0.00% EMS	0,11	3	0,03	A

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

Anexo 6: Diámetro de tallo (semana 2).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,73	0,63	20,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	4	0,01	6,85	0,0064
MUTAGENO QUIMICO	0,03	4	0,01	6,85	0,0064
Error	0,01	10	0,0011		
Total	0,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,08776

Error: 0,0011 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.25% EMS	0,25	3	0,02	A	
0.75% EMS	0,16	3	0,02	A	B
0.50% EMS	0,15	3	0,02		B
1.00% EMS	0,13	3	0,02		B
0.00% EMS	0,13	3	0,02		B

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

Anexos 7: Diámetro de tallo (semana 3).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,5	0,3	30,1

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	4	0,01	2,53	0,1062
MUTAGENO QUIMICO	0,03	4	0,01	2,53	0,1062
Error	0,03	10	0,0031		
Total	0,06	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14881

Error: 0,0031 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.75% EMS	0,24	3	0,03	A
0.25% EMS	0,23	3	0,03	A
1.00% EMS	0,17	3	0,03	A
0.00% EMS	0,15	3	0,03	A
0.50% EMS	0,13	3	0,03	A

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

Anexos 8: Diámetro de tallo (semana 4).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,83	0,76	16,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	4	0,01	12,17	0,0007
MUTAGENO QUIMICO	0,04	4	0,01	12,17	0,0007
Error	0,01	10	0,0008		
Total	0,05	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07600

Error: 0,0008 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	0,25	3	0,02	A	
0.75% EMS	0,22	3	0,02	A	B
0.25% EMS	0,15	3	0,02		B C
0.00% EMS	0,14	3	0,02		C
1.00% EMS	0,11	3	0,02		C

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

Anexos 9: Número de ramas (semana 1).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,45	0,23	23,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12,04	4	3,01	2,04	0,1637
MUTAGENO QUIMICO	12,04	4	3,01	2,04	0,1637
Error	14,72	10	1,47		
Total	26,76	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,26022

Error: 1,4720 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.00% EMS	6,53	3	0,70	A
1.00% EMS	5,93	3	0,70	A
0.75% EMS	4,80	3	0,70	A
0.50% EMS	4,47	3	0,70	A
0.25% EMS	4,20	3	0,70	A

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

Anexos 10: Número de ramas (semana 2).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,4	0,17	12,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,29	4	1,07	1,7	0,2263
MUTAGENO QUIMICO	4,29	4	1,07	1,7	0,2263
Error	6,32	10	0,63		
Total	10,61	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,13625

Error: 0,6320 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.00% EMS	7,27	3	0,46	A
0.75% EMS	6,6	3	0,46	A
0.25% EMS	6,53	3	0,46	A
0.50% EMS	6,33	3	0,46	A
1.00% EMS	5,6	3	0,46	A

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

Anexos 11: Número de ramas (semana 3).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,67	0,53	33,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	183,37	4	45,84	5,01	0,0177
MUTAGENO QUIMICO	183,37	4	45,84	5,01	0,0177
Error	91,49	10	9,15		
Total	274,86	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,12808

Error: 9,1493 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.75% EMS	13,73	3	1,75	A	
0.25% EMS	12,87	3	1,75	A	B
0.00% EMS	7,2	3	1,75	A	B
0.50% EMS	6	3	1,75	A	B
1.00% EMS	5,6	3	1,75		B

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

Anexos 12: Número de ramas (semana 4).

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,94	0,91	16,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	761,88	4	190,47	37,85	<0,0001
MUTAGENO QUIMICO	761,88	4	190,47	37,85	<0,0001
Error	50,32	10	5,03		
Total	812,2	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,02786

Error: 5,0320 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.				
0.50% EMS	25,27	3	1,3	A			
0.75% EMS	17,2	3	1,3		B		
0.25% EMS	12,27	3	1,3		B	C	
0.00% EMS	8,53	3	1,3			C	D
1.00% EMS	4,8	3	1,3				D

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

Anexos 13: Número de hojas (semana 1).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,45	0,23	23,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	108,34	4	27,08	2,04	0,1637
MUTAGENO QUIMICO	108,34	4	27,08	2,04	0,1637
Error	132,48	10	13,25		
Total	240,82	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,78066

Error: 13,2480 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.00% EMS	19,60	3	2,10	A
1.00% EMS	17,80	3	2,10	A
0.75% EMS	14,40	3	2,10	A
0.50% EMS	13,40	3	2,10	A
0.25% EMS	12,60	3	2,10	A

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

Anexos 14: Número de hojas (semana 2).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,4	0,17	12,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38,64	4	9,66	1,7	0,2263
MUTAGENO QUIMICO	38,64	4	9,66	1,7	0,2263
Error	56,88	10	5,69		
Total	95,52	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,40874

Error: 5,6880 gl: 10

MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.	
0.00% EMS	21,8	3	1,38	A
0.75% EMS	19,8	3	1,38	A
0.25% EMS	19,6	3	1,38	A
0.50% EMS	19	3	1,38	A
1.00% EMS	16,8	3	1,38	A

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

Anexos 15: Número de hojas (semana 3).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,67	0,53	33,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1650,34	4	412,58	5,01	0,0177
MUTAGENO QUIMICO	1650,34	4	412,58	5,01	0,0177
Error	823,44	10	82,34		
Total	2473,78	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=24,38423					
Error: 82,3440 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.75% EMS	41,2	3	5,24	A	
0.25% EMS	38,6	3	5,24	A	B
0.00% EMS	21,6	3	5,24	A	B
0.50% EMS	18	3	5,24	A	B
1.00% EMS	16,8	3	5,24	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexos 16: Número de hojas (semana 4).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,94	0,91	16,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6856,9	4	1714,22	37,85	<0,0001
MUTAGENO QUIMICO	6856,9	4	1714,22	37,85	<0,0001
Error	452,88	10	45,29		
Total	7309,78	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=18,08359					
Error: 45,2880 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	75,8	3	3,89	A	
0.75% EMS	51,6	3	3,89	B	
0.25% EMS	36,8	3	3,89	B	C
0.00% EMS	25,6	3	3,89	C	D
1.00% EMS	14,4	3	3,89	D	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexos 17: Índice de germinación.

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Semillas Germinadas	15	0,10	0,00	63,79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	640,00	4	160,00	0,27	0,8892
Tratamientos	640,00	4	160,00	0,27	0,8892
Error	5876,00	10	587,60		
Total	6516,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=65,13794				
Error: 587,6000 gl: 10				
Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0.75% EMS	50,00	3	14,00	A
0.00% EMS	40,00	3	14,00	A
1.00% EMS	33,33	3	14,00	A
0.50% EMS	33,33	3	14,00	A
0.25% EMS	33,33	3	14,00	A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Anexos 18: Fotografías del proceso de investigación.



a) Impregnación de semillas de Alfalfa Granada Mejorada.



b) Preparación del terreno.



c) Día de siembra en el terreno de prueba.



d) Aplicación de abono.



e) Cultivo de Alfalfa granada mejorada (semana 1)



f) Cultivo de Alfalfa granada mejorada (semana 3)