



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



TRABAJO DE TITULACIÓN

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

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TEMA:

Caracterización de alfalfa nacional (*Medicago sativa*) inducida a
mutación, mediante etilmetasulfonato “EMS”

AUTOR

Oswaldo Josué Moran Zarate

TUTOR

Ing. Edwin Mendoza Hidalgo, MSc.

Babahoyo - Los Ríos – Ecuador

2023

INDICE

I.	INTRODUCCION	1
1.1.	Objetivos.....	3
1.1.1.	Objetivo general.....	3
1.1.2.	Objetivos específicos.....	3
II.	MARCO TEORICO.....	4
2.1.	Características generales	4
2.1.1.	Ciclo vegetativo.....	4
2.1.2.	Importancia Forrajera	4
2.1.3.	Valor nutricional.....	5
2.2.	Alfalfa nacional.....	6
2.2.1.	Clasificación taxonómica.....	6
2.2.3.	Raíz.....	6
2.2.4.	Tallo.....	7
2.2.5.	Hojas	7
2.2.6.	Flor	7
2.2.7.	Fruto.....	7
2.3.	Fase de desarrollo del cultivo	7
2.3.1.	Fase de germinación de la plántula	7
2.3.2.	Fase de crecimiento	8
2.3.3.	Fase de floración	8
2.3.4.	Fase de fructificación	8
2.3.5.	Etapas de desarrollo del fruto.....	8
2.4.	Condiciones climáticas y edafológicas.....	9
2.4.1.	Factores climáticos.....	9
2.4.1.1.	Clima.....	9

2.4.1.2.	Temperatura	9
2.4.2.	Factores edafológicos	9
2.4.2.1.	Suelo.....	9
2.4.2.2.	pH	10
2.4.2.3.	Salinidad	10
2.4.2.4.	Agua	10
2.4.2.5.	Abono	10
2.4.2.6.	Nitrógeno	11
2.4.2.7.	Fosforo	11
2.4.2.8.	Potasio.....	11
2.5.	Plaga y enfermedades.....	11
2.5.1.	Pulgones.....	12
2.5.2.	Trips.....	12
2.5.3.	Nematodos.....	12
2.6.	Enfermedades	12
2.6.1.	Roya de la alfalfa (<i>Uromyces striatus</i>).....	12
2.6.2.	Podredumbre blanca (<i>Sclerotinia trifoliorum</i>).....	13
2.6.3.	Mildio de la alfalfa (<i>Peronospora trifoliorum</i>).....	13
2.6.4.	Oídio de la alfalfa (<i>Erysiphe polygoni</i>).....	13
2.6.5.	Antracnosis (<i>Colletotrichu trifoll</i>).....	13
2.6.6.	Marchites bacteriana (<i>Corynebacterium insidiosum, Pseudomonas medicaginis</i>).....	14
2.7.	Mejoramiento Genético	14
2.8.	Tipos de Múgatenos	14
2.8.1.	Mutágenos químicos.....	15
2.8.2.	Mutágenos físicos	15
2.8.3.	Mutágenos biológicos.....	15
2.8.4.	Ethyl methane sulfonate “EMS”	15
2.8.5.	Niveles de mutación.....	16

2.8.6.	Mutación genética	16
2.8.7.	Mutación cromosómica	16
2.8.8.	Mutación genómica	16
2.8.9.	Mutación espontanea	16
2.8.10.	Mutación inducida	16
III.	MATERIALES Y METODOS.....	17
3.1.	Características del Área de Estudio	17
3.1.1.	Materiales	17
3.1.2.	Métodos.....	17
3.1.3.	Factores de estudio.....	17
3.2.	Metodología de trabajo	18
3.3.	Tratamientos.....	18
3.3.1.	Diseño Experimental	18
3.4.	Esquema de varianza	18
3.4.1.	Modelo Matemático	19
3.5.	Manejo del ensayo	19
3.5.1.	Impregnación	19
3.5.2.	Preparación del terreno y siembra	19
3.5.3.	Riego	20
3.5.4.	Fertilización	20
3.5.5.	Control de malezas	20
3.5.6.	Cosecha	20
3.6.	Datos Evaluados	20
3.6.1.	Índice de germinación.....	20
3.6.2.	Altura de la planta.....	20
3.6.3.	Diámetro del tallo	20
3.6.4.	Número de ramas	21
3.6.5.	Número de hojas.....	21

IV.	RESULTADOS	22
	Altura de la planta primera semana.....	22
	Altura de la planta segunda semana.....	22
	Altura de la planta tercera semana.....	22
	Altura de la planta cuarta semana	23
	Tabla 5. Altura de planta por semanas	23
	Gráfico 1. Altura de planta de los tratamientos por semana.	23
	Diámetro de tallo primera semana.	24
	Diámetro de tallo segunda semana	24
	Diámetro de tallo tercera semana	24
	Diámetro de tallo cuarta semana.....	25
	Tabla 6. Diámetro de tallo por semanas	25
	Gráfico 2. Diámetro de planta de los tratamientos por semana.	26
	Ramas de planta primera semana	26
	Ramas de planta segunda semana.....	26
	Ramas de planta tercera semana.....	27
	Ramas de planta cuarta semana	27
	Tabla 7. Ramas de planta por semanas	27
	Gráfico 3. Ramas de planta de los tratamientos por semana.	28
	Numero de hojas primera semana	28
	Numero de hojas en la segunda semana	28
	Numero de hojas en la tercera semana	29
	Numero de hojas en la cuarta semana	29
	Tabla 8. Numero de hojas de planta por semanas	30
	Gráfico 4. Numero hojas de planta de los tratamientos por semana.	30
	Germinación.	31
V.	DISCUSIÓN	32
VI.	CONCLUSIONES	34

VII.	RECOMENDACIONES.....	36
VIII.	RESUMEN.....	37
IX.	SUMMARY	38
X.	BIBLIOGRAFÍAS.....	39

ANEXOS

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuadro de composición de materia seca de hojas y tallos de alfalfa (Medicago sativa)	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la alfalfa.....	6
Tabla 3. Descripción de los tratamientos en estudio.....	18
Tabla 4. Esquema de Varianza	18
Tabla 5. Altura de planta por semanas	23
Tabla 6. Diámetro de tallo por semanas	25
Tabla 7. Ramas de planta por semanas.....	27
Tabla 8. Numero de hojas de planta por semanas.....	30

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Altura de planta de los tratamientos por semana.	23
Gráfico 2. Diámetro de planta de los tratamientos por semana.	26
Gráfico 3. Ramas de planta de los tratamientos por semana.....	28
Gráfico 4. Numero hojas de planta de los tratamientos por semana.	30

I. INTRODUCCION

La alfalfa es una leguminosa forrajera utilizada como una forma de alternativa nutricional, para rumiantes y monogástricos herbívoros, por su alto valor nutritivo con un 24% de proteína en las hojas en materia seca (MS) y el 10% de proteína en el tallo este trabajo de investigación experimental se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Técnica de Babahoyo (Cadena, 2022).

La alfalfa (*Medicago sativa*) tiene su origen en la cuenca del mediterráneo en Asia Menor englobando países como Turquía, Irak, irán, siria, Afganistán y Paquistán. La llegada a américa latina se por los españoles y portugueses en el siglo XVI tubos excelentes resultados gracias las condiciones ambientales y el suelo con los nutrientes necesarios para su desarrollo (Diana, 2019).

En el Ecuador es utilizada principalmente para la alimentación el ganado lechero en heno, forraje verde, ensilo entre otros, Siendo de importancia nacional, el manejo agronómico del cultivo de alfalfa es escaso, por lo tanto, en regiones donde es cultivada esta especie se requiere generar información. (Viteri, 2019).

La alfalfa ha demostrado su capacidad para adaptarse a diferentes cambios climatológicos y suelos, esta planta le brinda al ganado varios beneficios ya que posee vitaminas y minerales y un alto valor proteico y fibra natural.

Actúa como cultivo conservacionista de la fauna, disminuye erosiones del suelo y es reductor de plagas y enfermedades, al pertenecer a la familia de las leguminosas esta capta nitrógeno atmosférico simbióticamente y mejora la fertilidad química del suelo (Coral N. R., 2015).

En los años 1999 y 2003 a nivel mundial entre los mayores productores de semilla de alfalfa esta EE. UU con un 47.76% de producción, en Canadá 20.28%, Australia 9.96%, Francia 5.97%, Italia 4.68% y otros países con porcentajes inferiores.

En el mundo la superficie de cultivo de alfalfa tiene una extensión de 33 millones de hectáreas, países europeos como Italia maneja 1.2 millones, RUSIA 1.1 millones, Francia 88 mil y España con 335 mil hectáreas. En América países con mayor superficie cultivada con porcentajes mayor a 10 millones de hectáreas Canadá alcanza la cifra de 1.2 millones de hectáreas con variedad de alfalfa que tienen resistencia a heladas.

En los países sudamericanos Argentina ocupa el segundo lugar con mayor superficie sembrada con 7.5 millones de hectáreas, siendo esta la principal actividad de producción agrícola.

PERU ha producido subpoblaciones genéticamente diferenciadas de alfalfa a un habitat específica, ecosistemas definidos con límites de tolerancia particulares a los factores ambientales locales, países como México, Venezuela, Colombia, Ecuador se han convertido en los mayores importadores de semillas de alfalfa (*Medicago sativa*) (GALARZA, 2014).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

- Evaluar la caracterización de alfalfa nacional (*Medicago sativa*) inducida a mutación mediante Ethyl methane sulfonate “EMS”.

1.1.2. Objetivos específicos

- Sistematizar el comportamiento de la alfalfa nacional en condiciones tropicales en un lapso de tiempo y ver su adaptabilidad en el terreno de prueba de la Universidad Técnica de Babahoyo en la Facultad de Ciencias Agropecuarias “Medicina veterinaria y zootecnia”.
- Valorar el índice de germinación de alfalfa nacional en las bandejas con sus respectiva variedad, tiempo y tratamiento.

II. MARCO TEORICO

2.1. Características generales

Nombre común: Alfalfa común

Nombre científico: *Medicago sativa* L

Origen: la alfalfa es un cultivo perenne que a lo largo de la historia se ha hecho presente, esta leguminosa es originaria del sudeste de Asia y Irán como primer sitio de cultivo desde el año 700 antes de cristo, en Grecia llega 200 años más tarde y de Europa se difundió a África. La llegada a América se dio por conquistadores, difundándose hacia EE. UU en el siglo XIV (Coral R. T., 2015).

La alfalfa es una leguminosa de crecimiento perenne, con hojas trifoliadas con alturas de 60 y 90cm y de sistema radicular profundo, se la considera como la “Reina de las leguminosa forrajera “por su alto contenido de proteína (hasta un 27%) la importancia de la alfalfa va desde su interés por su fuente natural de proteína, vitaminas y minerales y su importante contribución de cultivo conservacionista de fauna y reducción energética que supone la fijación simbiótica de nitrógeno para el propio cultivo (Melendrez, 2022).

2.1.1. Ciclo vegetativo

La alfalfa *Medicago sativa* es un cultivo perenne, con alta demanda de agua y con un sistema reticular profundo, su longevidad esta entre los 10 a 12 años en alfalfa cultivadas de manera manual y de 4 a 5 años en lotes extensivos cultivadas de forma mecanizada (Maria, 2021).

2.1.2. Importancia Forrajera

La importancia de este cultivo radica en que es una leguminosa y al serlo aporta un alto contenido de nitrógeno al suelo por medio de los nódulos radiculares que posee, lo que permite el incremento al rendimiento por hectárea e incorporando abono al suelo en el que se encuentra sembrada, evitando también problemas

de erosión, de los forrajes más utilizados como alternativa de alimentación en diferentes especies tenemos la alfalfa *Medicago sativa*, la chala de maíz *Zea mays*, el pasto elefante *pennisetum purpureum*, la hoja del camote *Hypomea batata*, la hoja y tronco del plátano, melaza como la abadilla, el gramalote, la grama china *Sorghum halepense* entre otras melazas, en la región andina la alfalfa es utilizada, así como también ray grass, trébol y retama (Trujillo, 2010-2011).

2.1.3. Valor nutricional

Considerada como la reina de las leguminosas por proporcionar elevados niveles de proteínas, minerales y vitamina de calidad, además contiene un valor energético muy alto estando relacionado con el valor nitrogenado del forraje. Como fuente de minerales tiene:

Calcio, fósforo, potasio, magnesio, azufre etc.

Los elevados niveles de β -caroteno que son precursores de la vitamina A que influyen en la producción de los bovinos (Amaiquema, 2022).

Tabla 1. Cuadro de composición de materia seca de hojas y tallos de alfalfa (*Medicago sativa*)

%	Hojas	Tallos
Proteína bruta	24	10.7
Grasa bruta	3.1	1.3
Extracto no nitrogenado	45.8	37.3
Fibra bruta	16.4	44.4
Cenizas	10.7	6.3

Fuente (Guanoluisa, 2007).

2.2. Alfalfa nacional

2.2.1. Clasificación taxonómica

La alfalfa (*Medicago sativa*) presenta la siguiente clasificación (Chariguaman, 2014).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la alfalfa

Clasificación	Taxonomía
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Faboideae
Tribu	Trifolieae
Genero	Medicago
Especie	<i>Medicago sativa</i>
Nombre científico	<i>Medicago sativa</i> L.

2.2.2. Descripción botánica de alfalfa (*Medicago sativa. L*)

(Salvador, 2012) A lo largo de la historia la alfalfa ha estado presente en la humanidad, gracias a las investigaciones realizadas por varios autores se describe a la alfalfa de la siguiente manera.

2.2.3. Raíz

La raíz principal es pivotante, robusta y muy desarrollada crece de forma vertical alargada hasta 5m de longitud, forman un centro del cual otras raíces pueden

brotar lentamente, posee una corona que sale del terreno del cual emergen brotes que dan lugar a los tallos (Yagual, 2019).

2.2.4. Tallo

Estos tallos son erguidos y herbáceos en la base de estos se encuentran formaciones perenne y semileñosa capaces de soportar el peso de las hojas y de la inflorescencia (Guamaní Chiliza Miguel Ángel).

2.2.5. Hojas

Las hojas son trifoliadas alternas y pecioladas, con folículo de color verde oscuro, aunque las primeras hojas verdaderas son unifoliadas (Patiño, 2013).

2.2.6. Flor

La flor pertenece a la subfamilia papilionoidea, tienen un color característico azul o púrpura, con inflorescencia en racimos que nacen en las axilas de las hojas (Guamaní Chiliza Miguel Ángel).

2.2.7. Fruto

El fruto es una vaina espiral, castaño negruzco dentro de este se encuentran semillas pequeña y arriñonada de color amarillo castaño de 1.5 a 2.5 mm de longitud, con un peso promedio de 1000 semillas es de 2,2 g (Salvador, 2012).

2.3. Fase de desarrollo del cultivo

2.3.1. Fase de germinación de la plántula

La germinación y emergencia de las plántulas de alfalfa (*Medicago sativa*) ocurren entre los 3 a 7 días de la siembra esta varían según condiciones de humedad y temperatura y calidad fisiológica de la semilla, la yema del primer nudo del tallo sobre los cotiledones sale por primera hoja verdadera (unifoliada),

donde finaliza el estado de la plántula, bajo buenas condiciones el proceso dura 10 a 15 días (D´Attellis, 2005).

2.3.2. Fase de crecimiento

En esta fase se hace presente una actividad fotosintética para el crecimiento tanto de los tallos, raíces y hojas, la duración de esta fase depende de factores ambientales como temperatura, iluminación, duración del día, humedad etc. (Chariguaman, 2014).

2.3.3. Fase de floración

Esta fase se inicia con la diferenciación de botones florales y finaliza con la floración en donde la planta alcanza su máxima reserva en la raíz, no obstante llega el momento que la superficie foliar deja de aumentar, los tejidos son menos eficientes en la función fotosintética, la planta comienza a disminuir debido a las necesidades de producción por las reservas, la existencia de periodos fríos favorece la aparición de primordios florales, en cuanto a las temperaturas elevadas ejercen un efecto inhibitorio en la floración (Chariguaman, 2014).

2.3.4. Fase de fructificación

Esta fase apertura con la fecundación y finaliza con la maduración de la semilla, el fruto de la alfalfa se la denomina como el ovario de la planta fecundada en donde el ovulo dará lugar a la semilla.

2.3.5. Etapas de desarrollo del fruto

- El desarrollo del ovario.
- Etapa que va a tener lugar después de la fecundación.

El tamaño del fruto va depender de los acontecimientos antes de la antesis, etapa en la cual la planta queda implantada, es la pre-antesis y tamaño final del fruto dependerá del número de divisiones que se dieron durante la formación de

ovario, también depende de todos los factores ambientales como concentración de CO₂ que influye sobre la división celular y todas las condiciones ambientales que afecten el estado de la planta. Dentro de los reguladores de crecimiento el tamaño final del fruto dependerá de una concentración adecuada de citoquininas, auxinas y etileno (Chariguaman, 2014).

2.4. Condiciones climáticas y edafológicas

2.4.1. Factores climáticos

2.4.1.1. Clima

El cultivo de alfalfa se adapta a condiciones tropicales como cálidas secas hasta el templado y frío es decir desde los 3000 msnm sobre el nivel del mar, en la mejor altura esta entre los 1.500 y 2.500 msnm. Se considera suficiente 900 mm anual de lluvias repartida. Es sensible al exceso de humedad (Pombosa, 2016).

2.4.1.2. Temperatura

Las semillas de alfalfa comienzan a germinar a una temperatura de 2-3°C en condiciones ambientales que lo permitan, a lo que asciende la temperatura la germinación es mucho más rápida hasta alcanzar temperaturas óptimas de 28-30°C, temperaturas que superan los 38°C son letales para las plántulas, las temperaturas medias anual para una buena producción forrajera esta entre los 20°C siendo un rango óptimo (Bustamante, 2013).

2.4.2. Factores edafológicos

2.4.2.1. Suelo

La adaptabilidad de la alfalfa es notable en diversas clases de suelo, para tener un buen desarrollo de la planta es indispensable suelos profundos, con subsuelos permeables y bien drenados la alfalfa necesita suelos con 2-3 % de Ca: requiere también de P y K (Pombosa, 2016).

2.4.2.2. pH

El pH debe ser neutro o ligeramente alcalino entre un rango de (6.2-7.8) la alfalfa puede vegetar con un pH de 9 y llegar al pH de 11, no soporta la acidez y su límite para el cultivo es de un pH 4.5 -5.5.

2.4.2.3. Salinidad

La alfalfa cuyo Ph debe ser neutro, es muy sensible a la sanidad, los síntomas son en todos parecidos a la sequía, generando palidez de algunos tejidos, disminución del tamaño de las hojas y por último la parada vegetativa y el achaparrado, el incremento de la salinidad induce desequilibrios entre la raíz y la parte aérea (Pombosa, 2016).

2.4.2.4. Agua

La alfalfa requiere de una administración hídrica de forma fraccionada, ya que sus necesidades varían en el transcurso del ciclo productivo. El aporte de agua en caso de riego por inundación es de 1000m³/ha y por aspersión es de 880m³/ha. Los cultivos establecidos, como norma general, deben recibir de 1 100 a 1 200 mm/ha. Año, ya sea en forma de riego o de lluvias (Guanopatin, 2012).

2.4.2.5. Abono

Se aplica al comienzo una enmienda caliza al voleo para corregir la acidez, tratando de sustituir los cationes hidrógeno por cationes calcio, ya que es importante para el desarrollo de la planta y esencial para la nodulación (Guanoluisa, 2007).

La presencia de aluminio y magnesio reduce el crecimiento de la planta y afecta al desarrollo de las raíces, entre el fosforo y el aluminio se produce una interacción negativa, la presencia de aluminio libre en el suelo disminuye la cantidad de fosforo disponible (Guanoluisa, 2007).

2.4.2.6. Nitrógeno

Cuando el terreno está en óptimas condiciones y el pH no es muy ácido y no existe ningún déficit de elementos esenciales, la alfalfa obtiene el nitrógeno por las bacterias en sus nódulos.

En cambio, en estados vegetativos estas requieren nitrógeno del suelo hasta que se formen los nódulos y comience con la fijación (Guanoluisa, 2007).

2.4.2.7. Fosforo

La fertilización fosfórica es de suma importancia para el desarrollo radicular, este elemento se desplaza muy rápidamente en el suelo se recomienda aplicarlo en profundidad incluso en siembra con semillas (Guanoluisa, 2007).

2.4.2.8. Potasio

La alfalfa *Medicago sativa* requiere grandes cantidades de este elemento ya que de este depende la resistencia al frío, sequías y almacenamiento de reservas, se recomienda administrar potasio de fondo antes de la siembra junto con el fosforo (Guanoluisa, 2007).

2.5. Plaga y enfermedades

En los cultivos de alfalfa una de las enfermedades más importantes se encuentra la: phytohtora, Antracnosis, Marchitamiento bacteriano, fusarium, y entre las plagas los pulgones verdes, azules y motes.

Es de suma importancia observar el perfil de estas enfermedades y plagas para seleccionar el mejor producto que otorga seguridad y una máxima productividad (Guanoluisa, 2007).

2.5.1. Pulgones

Son insectos chupadores de cuerpo globoso estos insectos extraen la savia cuando realizan esta acción dejan toxinas que necrosan los tejidos circundantes a demás segregan un jugo azucarado que impregna la planta dando origen a un caldo de cultivo para los hongos pudiendo modificar el sabor del forraje haciéndolo poco apetecible para el ganado (ANSO, 2015).

2.5.2. Trips

Estos insectos son pequeños que se alimentan de las células de las plantas, cuando rompen el tejido aparecen manchas blanquecinas en las hojas, peciolo y yemas, para combatir estos insectos se recomienda utilizar Cipermetrin al 5% + Malatión 70% como un concentrado emulsionable a dosis de 0.10-0.15%.

2.5.3. Nematodos

Es un endoparásito de las raíces y raicillas de la alfalfa, estos parásitos producen agallas como collares de diferentes formas y tamaños, en cuyo interior se multiplican estos patógenos. Pueden provocar la muerte por descomposición del sistema radicular, aunque es considerado como una plaga del suelo por sobrevivir en el mismo junto a los restos de cosechas (Sanchez, 2011).

2.6. Enfermedades

2.6.1. Roya de la alfalfa (*Uromyces striatus*)

Es una enfermedad típica de zonas cálidas, esta no produce muerte de la planta solo afecta a la producción y calidad de forraje.

Los síntomas principalmente se manifiestan en las hojas causando pústulas marrones o pardas de hasta medio milímetro de diámetro, en el interior se encuentran las esporas. Para combatirlas se produce un corte precoz (AGROBIT, 2007).

2.6.2. Podredumbre blanca (*Sclerotinia trifoliorum*)

Este hongo ataca principalmente al cuello y raíz de la planta causando una podredumbre blanca y húmeda. En la base de los tallos aparece una materia blanquecina donde se observan corpúsculos negros que son los esclerocios, esta enfermedad se prolifera en otoños lluviosos.

2.6.3. Mildio de la alfalfa (*Peronospora trifoliorum*)

Enfermedad muy frecuente pero su ataque resulta peligroso en el establecimiento, los folíolos amarillean con aspectos variegados llegando a tomar colores grisáceos si las condiciones ambientales son húmedas.

2.6.4. Oídio de la alfalfa (*Erysiphe polygoni*)

Esta enfermedad hace su presencia en el haz y envés de la hoja un moho blanquecino, debajo del cual se forman puntos negros, los ataques de esta enfermedad son poco intensas.

El control se lo realiza con penconazol 10% como concentrado emulsionable en dosis de 40cc/100 l de agua.

2.6.5. Antracnosis (*Colletotrichu trifoll*)

Este hongo ataca principalmente a las partes aéreas de la planta, sobre todo al tallo hasta llegar al cuello, aparecen manchas fusiformes de color oscuro y negras en el centro estas impiden el movimiento de agua y nutrientes dando lugar a la muerte de las partes aéreas superiores, esta enfermedad es más común en cultivos de alfalfa ya establecidos que en los recién sembrados y en los últimos cortes (Gomez P. , 2008).

2.6.6. Marchites bacteriana (*Corynebacterium insidiosum*, *Pseudomonas medicaginis*)

Esta enfermedad presente en las plantas síntomas de detención de crecimiento de la punta del tallo y amarillamiento al segundo o tercer año del establecimiento, otro de los síntomas es que producen gran número de tallos finos de escaso vigor donde se extiende la infección por todo el tejido vascular.

2.7. Mejoramiento Genético

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una especie multiforme con una gran mutabilidad genética que tiene la facilidad de acoplarse a diversas condiciones de suelo y climáticas, la inducción de mutaciones en el mejoramiento genético de los cultivos es una técnica bien establecida en la suplementación de variabilidad genética (Cruz, 2014).

La herencia en alfalfa es compleja en gran parte debido a la naturaleza autotetraploide de la meiosis; esta especie produce un gameto diploide ($2n= 32$), característica genética que afecta profundamente su comportamiento fenotípico. En la actualidad existen varias técnicas para realizar el mejoramiento genético de los pastos, y forrajes; los motivos para realizar esta actividad son múltiples, ya sea por aumentar la producción, resistencia a plagas y enfermedades, mayor rendimiento al corte, adaptabilidad en condiciones tropicales (Cadena, 2022).

La aplicación de Ethyl methane sulfonatea evidenciado reportes beneficiosos para las plántulas de semillas que son tratadas con este método de mutagenesis (Bautista, 2020).

2.8. Tipos de Múgatenos

Existen tres tipos de mutágenos que se dividen de la siguiente manera:

2.8.1. Mutágenos químicos

Son compuestos químicos que tienen la capacidad de alterar las estructuras del DNA de manera agresiva, tales como el ácido nitroso, brominas y varios de los compuestos.

2.8.2. Mutágenos físicos

Estos son principalmente las radiaciones emitidas como la radiación ultravioleta, la radiación gamma y la alfa que tienen la capacidad de alterar la estructura y la secuencia del DNA. Como agentes físicos también se toman en consideración los ultrasonidos con 400.00 vibraciones por segundo que han demostrado la capacidad de generar mutaciones en *Drosophila* y en varias 16 plantas superiores, la centrifugación es otro método ya que tiene la capacidad de producir variaciones cromosómicas estructurales (Gomez J. C., 2023).

Experimentos hechos en plantas y animales han demostrado que el número de mutaciones producidas por la radiación es proporcional a la dosis; a mayor dosis mayor número de mutaciones, un punto importante es que no existe un umbral abajo del cual la radiación no tuviera efecto. Se cree que aún la más pequeña dosis de radiación puede producir una mutación (Bautista, 2020).

2.8.3. Mutágenos biológicos

Estos son todos aquellos organismos vivos que pueden llegar a alterar las secuencias del material genético en el hospedador, tales como virus, bacterias y hongos. Como ejemplo se mencionan los transposones que son fragmentos autónomos de DNA (Bautista, 2020).

2.8.4. Ethyl methane sulfonate “EMS”

El EMS es un compuesto físico-químico que posee propiedades de mutágenos, teratógeno y posiblemente carcinógeno cuya fórmula química es $C_3H_8O_3S$. Este compuesto se utiliza para realizar investigaciones de mejoramientos genéticos de algunos pastizales y como lo es en este caso la adaptación de la Alfalfa (*Medicago*

sativa) a condiciones tropicales, el químico al ser aplicado actúa en la célula de la semilla de alfalfa causando variaciones fenotípicas (Cadena, 2022).

2.8.5. Niveles de mutación

Esta clasificación de mutación está basada con la cantidad de material hereditario que ha sido afectado por la mutación.

2.8.6. Mutación genética

Esta es la mutación que afecta a un solo gen es decir que produce una variación en las características de este y que no necesariamente se transmite a la descendencia se presenta de manera espontánea y súbita o por la acción de mutágenos.

2.8.7. Mutación cromosómica

Mutación que afecta a un segmento cromosómico que incluye varios genes.

2.8.8. Mutación genómica

Este tipo de mutación afecta a cromosomas completos esto puede ser por exceso o por defectos

2.8.9. Mutación espontanea

Se produce de forma natural o normal en los individuos, como errores en la replicación como lesiones o daños fortuitos en el ADN.

2.8.10. Mutación inducida

Aquellas provocadas por previa alteración experimental del ADN bien sea directamente o indirectamente por agentes físicos o químicos denominado mutágenos (Bautista, 2020).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Características del Área de Estudio

El Proyecto experimental de Alfalfa Nacional (*Medicago sativa*) mediante Mutagénesis Inducida con EMS se dedica a la investigación en la agricultura, silvicultura, pesca y veterinaria en lo que tiene relación a mejoramiento genético de especies de gramíneas, este trabajo fue realizado en los predios de la Facultad Ciencias Agropecuaria en la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el km7,5 de la vía Babahoyo - Montalvo.

3.1.1. Materiales

- Guantes y traje de bioseguridad, mascarilla
- Agua, vasos plásticos grandes y medianos
- Probeta, vaso de precipitación, pesa electrónica, fundas, marcadores
- Toallas absorbentes, químico Ethyl methane sulfonate
- 300gr de semillas de alfalfa nacional (10 fundas de 30gm)
- Botas, regaderas, fertilizante, insecticidas, termómetro, esferos, libreta.

3.1.2. Métodos

Se utilizaron métodos:

- Inductivos – deductivos
- Deductivos – inductivos
- Método experimental

3.1.3. Factores de estudio

- Dosis de mutágenos químico utilizando el Ethyl methane sulfonate.

3.2. Metodología de trabajo

La investigación se realizó con 300 gr de semillas de alfalfa nacional aproximadamente en (10 fundas de 30gr) que fueron impregnadas con Ethyl methane sulfonate.

3.3. Tratamientos

Tabla 3. Descripción de los tratamientos en estudio

TRATAMIENTOS	DOSIS DE IMPREGNACIÓN
T1 (Testigo)	0,00%
T2	0,25 %
T3	0,50%
T4	0,75%
T5	1,00 %

3.3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó mediante un diseño completamente aleatorizado (DCA) utilizando 5 tratamientos y 3 repeticiones.

3.4. Esquema de varianza

Tabla 4. Esquema de Varianza

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	
Tratamiento	t - 1	4
Repetición	r-1	2
Error Experimental	t (r - 1)	10
Total	t.r -1	14

3.4.1. Modelo Matemático

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

Dónde:

Y_{ij} = Total de una observación

μ = Media de población

T_i = "efectos de i-esimo" de los tratamientos

ϵ_{ij} = Efecto aleatorio (error experimental)

3.5. Manejo del ensayo

Durante el ensayo del proyecto se realizó las siguientes actividades:

3.5.1. Impregnación

Las semillas de alfalfa se dejaron sumergidas durante por 24 horas, luego de este tiempo se procede al enjuague de la semilla con agua estilada dentro de la máquina de flujo laminar tomando todas las medidas de seguridad.

Una vez realizados los enjuagues, se sembró las semillas en el vivero de Medicina Veterinaria en bandejas de germinación para posterior sembrarlas en el terreno definitivo.

3.5.2. Preparación del terreno y siembra

Limpieza de hojas y malezas, des granulación de terrones, se retiraron piedras del terreno se procedió a arar con máquina y luego se pasó la máquina de hacer surcos, una vez listo el terreno con los surcos se hizo la siembra de las semillas de alfalfa con EMS en cada surco con su respectiva identificación de cada tratamiento.

3.5.3. Riego

Se aplicaron dos riegos por día en mañana y tarde, la cual se realizó de manera manual con regaderas.

3.5.4. Fertilización

Se aplicó fertilizante según los requerimientos nutricionales del cultivo de alfalfa, aplicando un abono a base de fósforo y potasio.

3.5.5. Control de malezas

Este control se realizó manualmente y con herramientas adecuadas para deshierbar la maleza que se presentan durante el cultivo.

3.5.6. Cosecha

Se la realizó la recolección de semillas de manera manual con tijeras y bolsas de papel con su identificación de cada tratamiento.

3.6. Datos Evaluados

3.6.1. Índice de germinación

Todos los días mediante la observación y conteo de las semillas germinadas en los 5 tratamientos.

3.6.2. Altura de la planta

Esta variable se tomó midiendo con una regla desde la base del suelo hasta la última inserción de la planta, es decir, hasta donde comienza el cogollo de la planta, con 5 plantas tomadas al azar en cada tratamiento.

3.6.3. Diámetro del tallo

Se evaluó el diámetro con la ayuda de un pie de rey en el tallo, a una altura de 5cm desde la base del suelo.

3.6.4. Número de ramas

Se contó el número de ramas desde la base hasta la última rama apical de la planta.

3.6.5. Número de hojas

Se contó el número de hojas totales de la planta para determinar la masa forrajera de la planta de alfalfa Nacional.

IV. RESULTADOS

Altura de la planta primera semana

Según el análisis de varianza para la variable altura de planta expresada en centímetros (cm) se puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 19,38% (Ver anexo 1)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, numéricamente T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo mayor altura con 18,88 cm mientras que el de menor altura fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 6,81cm. (Ver tabla 4)

Altura de la planta segunda semana

Según el análisis de varianza en la segunda semana puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 12,66% (Ver anexo 2)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo la mayor producción con 25,55 cm mientras que el de menor altura fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 9,49cm. (Ver tabla 4)

Altura de la planta tercera semana

Según el análisis de varianza en la tercera semana puede observar que no hubo significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 14,71% (Ver anexo 3)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, no se encontró diferencia estadística, pero numéricamente el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo la mayor altura con 34,77 cm mientras que la menor altura fue el T5 (1,00% de EMS + agua) con 24,60cm. (Ver tabla 4)

Altura de la planta cuarta semana

Según el análisis de varianza en la cuarta semana puede observar que hubo significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 12,22% (Ver anexo 4)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, no se encontró diferencia estadística, pero el mejor tratamiento fue el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzó la mayor altura con 46,32 cm mientras que la de menor altura fue el T1 (0,00% de EMS + agua) con 34,47cm. (Ver tabla 4)

Tabla 5. Altura de planta por semanas

ALTURA DE PLANTA				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	18,47	25,00	30,40	34,47
0.25% EMS	16,97	24,96	34,10	45,81
0.50% EMS	18,88	25,55	34,77	46,32
0.75% EMS	6,81	9,49	34,24	44,50
1.00% EMS	13,07	19,17	24,60	35,20
CV (%)	19,38	12,66	14,71	12,22
Significancia	**	**	NS	*

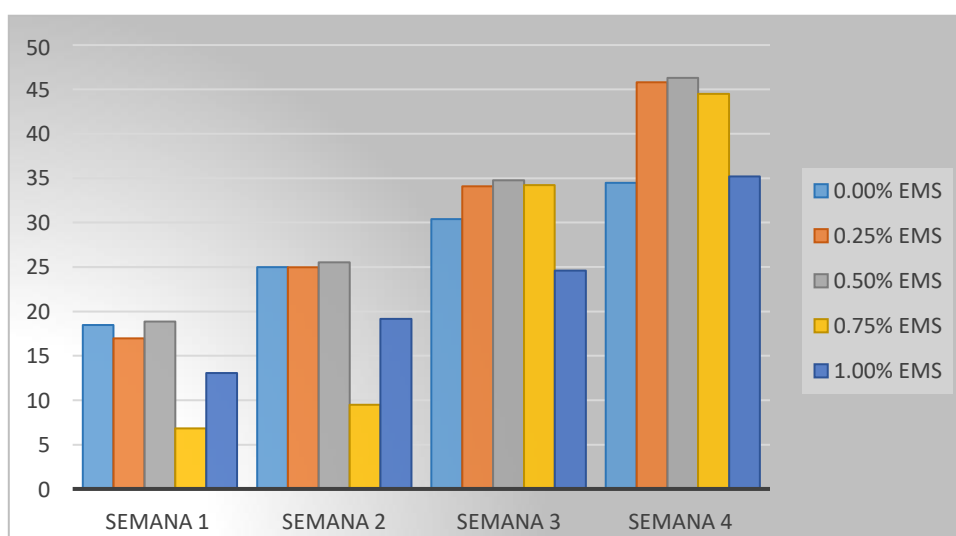
Las medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

NS= no significativo

***=** significativo

****=** altamente significativo.

Gráfico 1. Altura de planta de los tratamientos por semana.



Diámetro de tallo primera semana.

Según el análisis de varianza para la variable de diámetro expresada en centímetros (cm) se puede observar que si hubo una significancia estadística tanto para el tratamiento con un coeficiente de variación de 23,68%. (anexo 5)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, si se encontró diferencia estadística en la medida del tratamiento numéricamente T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo el mayor diámetro con 0,22 cm mientras que el de menor diámetro fue el T5 (1.00% de EMS + agua) con 0,10 cm. (ver tabla 6)

Diámetro de tallo segunda semana

Según el análisis de varianza en la segunda semana puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 17,91% (Ver anexo 6)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo el mayor diámetro con 0,34 cm mientras que el de menor diámetro fue el Testigo (0,00% de EMS + agua) con 0,2cm. (Ver tabla 6)

Diámetro de tallo tercera semana

Según el análisis de varianza en la tercera semana puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 22,48% (Ver anexo 7)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo el mayor diámetro con 0,35 cm mientras que el de menor diámetro fue el testigo (0,00% de EMS + agua) con 0,2cm. (Ver tabla 6)

Diámetro de tallo cuarta semana

Según el análisis de varianza en la segunda semana puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 14,01% (Ver anexo 8)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo el mayor diámetro con 0,38 cm mientras que el de menor diámetro fue el T5 (1,00% de EMS + agua) con 0,21 cm. (Ver tabla 6)

Tabla 6. Diámetro de tallo por semanas

Tratamiento	DIAMETRO			
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	0,16	0,2	0,2	0,25
0.25% EMS	0,17	0,21	0,25	0,27
0.50% EMS	0,22	0,34	0,35	0,38
0.75% EMS	0,14	0,17	0,21	0,26
1.00% EMS	0,1	0,16	0,16	0,21
CV (%)	23,68	17,91	22,48	14,01
Significancia	*	**	**	**

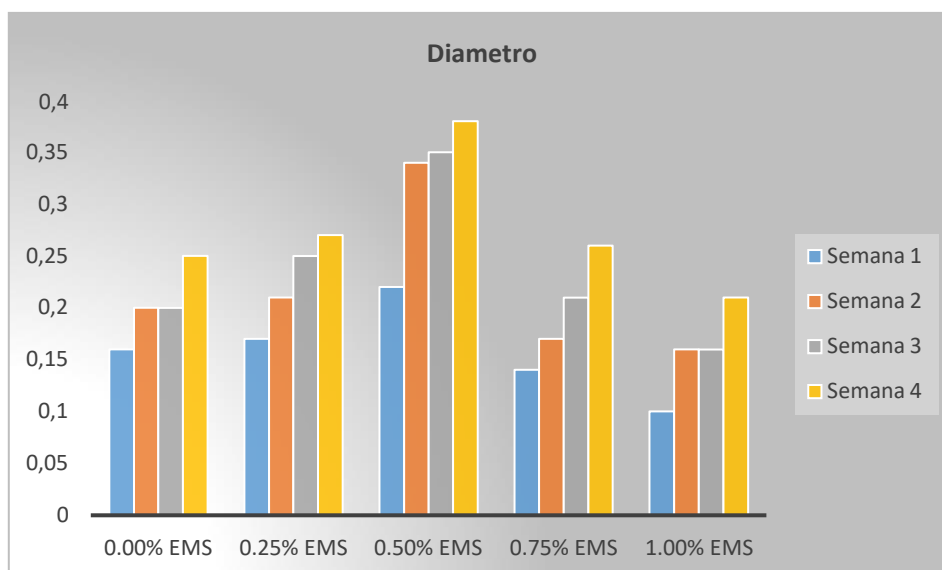
Las medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

NS= no significativo

***=** significativo

****=** altamente significativo.

Gráfico 2. Diámetro de planta de los tratamientos por semana.



Ramas de planta primera semana

Según el análisis de varianza para la variable ramas en la primera semana expresadas en centímetros (cm) se puede observar que no hay un significativo altamente estadístico tanto para los tratamientos y repeticiones con un coeficiente de variación 14,72% (anexo 9)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, si se encontró diferencia estadística en la medida del tratamiento numéricamente T3 (0,50% de EMS + agua) alcanzo la mayor producción con 9,13 cm mientras que el de menor producción fue el T5 (1,00% de EMS + agua) con 5,27 cm. (ver tabla 7)

Ramas de planta segunda semana

Según el análisis de varianza en la segunda semana puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,92% (Ver anexo 10)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el Testigo (0,00% de EMS + agua) alcanzo el mayor número de rama

con 11,07 cm mientras que el de menor número fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 6,4cm. (Ver tabla 7)

Ramas de planta tercera semana

Según el análisis de varianza en la tercera semana se observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,55% (Ver anexo 11)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T2 (0,25 % de EMS + agua) alcanzo el mayor número de rama con 13,47 cm mientras que el de menor número fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 7,47cm. (Ver tabla 7)

Ramas de planta cuarta semana

Según el análisis de varianza en la cuarta semana se observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 8,06 % (Ver anexo 12)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, el T3 (0,50 % de EMS + agua) alcanzo el mayor número de rama con 15,23 cm mientras que el de menor número fue el T5 (1,00 % de EMS + agua) con 8,8cm. (Ver tabla 7)

Tabla 7. Ramas de planta por semanas

Tratamiento	Numero de ramas.			
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	7,67	11,07	11,47	12,93
0.25% EMS	8	10,73	13,47	13,93
0.50% EMS	9,13	9,27	12,13	15,13
0.75% EMS	6,93	6,4	7,47	11,33
1.00% EMS	5,27	6,6	8,2	8,8
CV (%)	14,72	13,92	13,55	8,06
Significancia	**	**	**	**

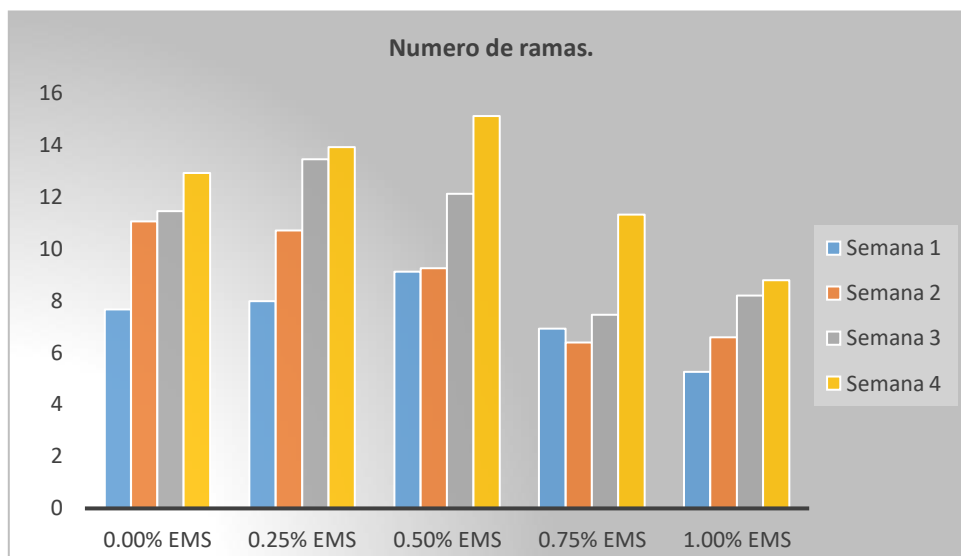
Las medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

NS= no significativo

***=** significativo

****=** altamente significativo.

Gráfico 3. Ramas de planta de los tratamientos por semana.



Numero de hojas primera semana

Según el análisis de varianza para la variable hojas de planta expresada en centímetros (cm) se puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,75% (Ver anexo 13)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, numéricamente Testigo (0,00 % de EMS + agua) alcanzo el mayor de hojas con 33,20 cm mientras que el de menor número fue el T5 (1,00% de EMS + agua) con 15,80cm. (Ver tabla 8)

Numero de hojas en la segunda semana

Según el análisis de varianza para la variable hojas de planta en la segunda semana expresada en centímetros (cm) se puede observar que hubo una alta

significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,92% (Ver anexo 14)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, numéricamente Testigo (0,00 % de EMS + agua) alcanzo el mayor de hojas con 33,2 cm mientras que el de menor número fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 19,2cm. (Ver tabla 8)

Numero de hojas en la tercera semana

Según el análisis de varianza para la variable hojas de planta en la tercera semana expresada en centímetros (cm) se puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 13,55% (Ver anexo 15)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, numéricamente T2 (0,25 % de EMS + agua) alcanzo el mayor de hojas con 40,4 cm mientras que el de menor número fue el T4 (0,75% de EMS + agua) con 22,4cm. (Ver tabla 8)

Numero de hojas en la cuarta semana

Según el análisis de varianza para la variable hojas de planta en la cuarta semana expresada en centímetros (cm) se puede observar que hubo una alta significancia estadística para los tratamientos con un coeficiente de variación de 7,5% (Ver anexo 16)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, se encontró diferencia estadística, numéricamente T3 (0,50 % de EMS + agua) alcanzo el mayor de hojas con 45,4 cm mientras que el de menor número fue el T5 (1,00 % de EMS + agua) con 24,77cm. (Ver tabla 8).

Tabla 8. Numero de hojas de planta por semanas

Numero de hojas.				
Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0.00% EMS	33,2	33,2	34,4	38,8
0.25% EMS	24	32,2	40,4	41,8
0.50% EMS	27,4	27,8	36,4	45,4
0.75% EMS	20,8	19,2	22,4	34
1.00% EMS	15,8	19,8	24,6	24,77
CV (%)	13,75	13,92	13,55	7,5
Significancia	*	**	**	**

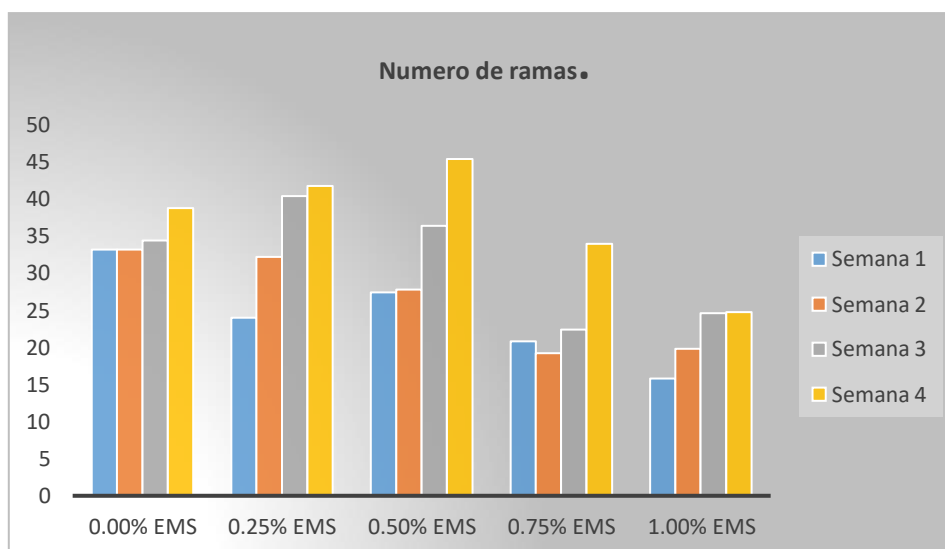
Las medidas con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$), de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

NS= no significativo

***=** significativo

****=** altamente significativo.

Gráfico 4. Numero hojas de planta de los tratamientos por semana.



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 42,61% (Ver anexo 17)

Realizada la prueba de TUKEY al 5% de probabilidad, no se encontró diferencia estadística, numéricamente T1 (0,00 % de EMS) alcanzo el mayor porcentaje de germinación con 50% mientras que el T5 (1,00 % de EMS + agua) alcanzó tan solo 27,33%.

V. DISCUSIÓN

Las semillas de alfalfa nacional *Medicago sativa* inducidas mediante Ethyl methane sulfonate “EMS” los tratamientos con concentraciones de T3 - 0,50% y T4 – 0,75% tuvieron mayor altura de planta en la primera y segunda semana mientras que los tratamientos de la tercera y cuarta semana el tratamiento vario donde el (T3 0,50%) dio mayor altura mientras que el de menor altura en la tercera y cuarta semana fue (T5 1,00%) y (Testigo – T1 0,00%) según (Gomez R. , 2020). En todas las mutante hubo diferencias en varios factores esto a la toxicidad del EMS, aunque la estabilidad de las plantas mutagenizadas obtenidas en altura, puede ser por organogénesis, el promedio de altura es notable con el 5M de EMS donde se obtuvo mayor número de planta con promedio de altura semejante y eso ayuda cuando se busca en campo cultivares con semejanza genética.

Según (Fuentes, 2019) la aplicación de EMS no perturbo el crecimiento y desarrollo de la planta las variaciones numéricas en altura a los 30 dds de la teca tendría a ser indicador por efecto del mutágenos, dado a que evidencia que a medida que incrementa la dosis de Ethyl methane sulfonate la altura tiende a disminuir. En estudios planteados por Gómez, Romero y Jiménez (1999), la altura de planta generada por los diferentes tratamientos mutagénico en general es homogénea, en el caso de quinua. Mientras que los estudios realizados por (Herrera, 2021). A los 50 días la dosis de EMS al 0,25% a 24 horas de impregnación mostro alta significancia siendo superior en altura con un 0,60m, en cuanto a la altura de planta se definió que esta varía en función a las dosis de EMS por lo que a mayor dosis menor crecimiento de plantas.

El diámetro de planta en la primera semana tuvo significancia en mayor diámetro de plántulas en el tratamiento (T3 – 0,50% de EMS) y en menor diámetro (T5 – 1,00% de EMS) Mientras que en la segunda semana y tercera en los tratamientos (T3 – 0,50% de EMS) también obtuvo el mayor diámetro donde el tratamiento (T1 – 0,00% de EMS) obtuvo menor diámetro, en la cuarta semana el tratamiento (T3 – 50% de EMS) dio mayor diámetro y el tratamiento (T5 – 1.00% de EMS) con menor diámetro. Estos resultados van cambiando a pasar del tiempo, tal

como lo expresa (Fuentes, 2019). Los efectos de las dosis de EMS, a los 30 días de la aplicación a la Teca, en diámetro de tallo, refleja que el EMS no influiría sobre la variable relacionada con el crecimiento diámetro en esta especie al menos en su etapa de plántula, pese a que se observa una tendencia a disminuir a medida que se incrementan las dosis de Ethyl methane sulfonate.

El mayor número de ramas en la primera semana tuvo alta significancia en los tratamientos (T3 – 0,50% de EMS) con mayor número de ramas que el (T5 – 1,00% de EMS) fue el de menor rama, en la segunda semana el testigo (T1 – 0.00% de EMS) con mayor número de rama y el (T4 – 0,75% de EMS) con menor número, en los tratamientos tres y cuatro el mayor número de ramas se dio en los tratamientos con (T2 – 0,25% de EMS y en (T3 – 0,50% de EMS) mientras que los tratamientos de menor número de rama fueron los (T4 – 0.75% de EMS y (T5 – 1,00%) encontrándose en todas las semanas diferencias significativas

El número de hojas fue significativo en la primera y segunda semana en los tratamientos testigo (T1 – 0.00% de EMS) teniendo mayor número de hojas que los tratamientos (T5 – 1.00% de EMS) de la primera semana fue el de menor número de hojas que el de la segunda semana (T4 – 0.75% de EMS) también tuvo menor número

Los tratamientos de la tercera y cuarta semana tuvieron significancia en tratamientos (T2 – 0.25% de EMS) - (T3 – 0.50% de EMS) con mayor número de hojas, mientras que los tratamientos (T4 – 0.75% de EMS) de la tercera semana obtuvo menor número de hojas y el tratamiento de la cuarta semana (T5 – 1.00% de EMS) según (Tello, 2017). Observándose que a medida que se incrementa el tiempo de inducción existe un retardo en el incremento de número de hojas/planta, la significancia del Factor B, muestra que a medida que se incrementa la concentración de EMS también existe un retardo en el incremento de número de hojas/planta.

VI. CONCLUSIONES

Dados los resultados obtenidos del presente proyecto de investigación experimental se derivan las siguientes conclusiones

Las semillas de alfalfa nacional que fueron impregnadas con Ethyl methane sulfonate “EMS” tuvo un proceso de germinación en bandejas de dos días en el vivero, mientras que en el terreno de prueba fue de tres días, las concentraciones de EMS si inciden en los porcentajes de germinación de las semillas de alfalfa nacional *Medicago sativa* con concentraciones de (T1 – 0,00% de EMS), (T2 – 0,25% de EMS), (T3 – 0,50% de EMS), (T4 – 0,75% de EMS), (T5 – 0,75% de EMS).

El EMS contribuye sobre las variaciones relacionadas con el fenotipo de la planta donde las concentraciones de EMS favorecidas en mayor altura, diámetro, ramas y hojas son los tratamientos de (T3 – 0,50%) y menor en concentraciones altas en tratamientos con (T4 – 0,75%)

Los datos a evaluar tanto de la altura de la planta, diámetro, ramas y número de hojas de la alfalfa nacional realizada la prueba de Tukey al 5% mostro que si hubo una alta significancia en diferentes tratamientos.

Las semillas sembradas en el terreno de prueba del total de plantas solo se vieron afectadas algunas por efecto lupa del agua en las hojas de los 5 tratamientos las plantas trasplantadas del vivero al terreno de prueba presentaron el mismo comportamiento y teniendo adaptabilidad a condiciones tropicales.

La aplicación de mejoramiento genético físico – químico que pudieran ser de aprovechamiento y el uso de diferentes técnicas para su conservación, en obtención de semillas, guardar el conjunto de genes que se transmite a través de la reproducción a la descendencia por medio de gametos células reproductoras.

Apoyado en los resultados registrados se establece que la dosis adecuada para generar una población mutante en cultivo de alfalfa nacional es de (T3 – 0,50% - T4 0,75% - T5 1,00% de EMS).

Al análisis de alfalfa nacional con 24 % de proteínas siendo inducida a mutación mediante Ethyl methane sulfonate tuvo una un alto porcentaje de proteína de 27 %.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones con las dosis establecidas de Ethyl methane sulfonate en diferentes semillas de plantas y en mayor cantidad y analizar su comportamiento tanto fenotípico como morfológico en la presente y futura generaciones de las plantas.

En lo referente al tiempo en la inducción de semillas sumergidas con EMS de alfalfa nacional, se propone a realizar nuevos ensayos donde el tiempo superior o inferior a 24 horas para determinar nuevas influencias en la germinación de semillas.

Incentivar a ministerios de agriculturas y universidades en proyectos de investigación con EMS físico - químico sobre el manejo de alfalfa ya que se tiene escasa información.

Dar un enfoque técnico a los grandes y pequeños productores de ganado bovino sobre cultivos alfalfares y los beneficios que le brindan al ganado y la utilización de forraje de materia seca en épocas sequias con alternativas de heno ensilaje entre otra

VIII. RESUMEN

La alfalfa Nacional es una leguminosa forrajera utilizada como una forma de alternativa nutricional, para rumiantes y monogástricos herbívoros, por su alto valor nutritivo con un 24% de proteína en las hojas en materia seca (MS) y el 10% de proteína en el tallo. En el Ecuador es utilizada principalmente para la alimentación el ganado lechero en heno, forraje verde, ensilo etc. La mutagenesis como herramienta de mejoramiento genético es de los métodos más utilizados, tanto físico (rayos gamma, rayos x entre otros) y químicos como Ethyl methane sulfonate (EMS) por lo que en este trabajo de proyecto de investigación se utilizó el EMS como inductor de la variabilidad genética en 5 tratamientos y en un tiempo de 24 hrs, en tres repeticiones en las semillas de alfalfa nacional (*Medicago sativa*) con el cual se busca variedad genómica en el ADN de la semilla tanto en la germinación como en la morfología de la planta. El presente Proyecto de investigación se llevó a cabo en la Universidad Técnica de Babahoyo en la Facultad de Ciencias Agropecuaria, Esc. Medicina Veterinaria y Zootecnia. El objetivo de estudio es evaluar la caracterización morfológica de la alfalfa nacional (*Medicago sativa*) inducida mediante Ethyl methane sulfonate. Se utilizó un diseño experimental para luego ser sembradas en bandejas de germinación dentro del vivero y el terreno de prueba para determinar su germinación y adaptabilidad a condiciones tropicales la información fue realizada mediante un diseño completamente aleatorio con los 5 tratamientos (T1: Testigo (Agua), T2: 0,25 % EMS, T3:0,50% EMS, T4: 0,75% EMS Y T5: 1,00 % EMS). Se evaluó el comportamiento que presenta el cultivo de Alfalfa con la impregnación en diferente dosis en cada tratamiento, 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 clave: Ethyl methane sulfonate, mutagenesis, inducida, germinación, inductor variabilidad genética.

IX. SUMMARY

National alfalfa is a forage legume used as a form of nutritional alternative, for ruminants and monogastric herbivores, due to its high nutritional value with 24% protein in the leaves in dry matter (DM) and 10% protein in the stem. . In Ecuador it is used mainly for feeding dairy cattle in hay, green fodder, silage, etc. Mutagenesis as a genetic improvement tool is one of the most widely used methods, both physical (gamma rays, x-rays, among others) and chemicals such as Ethyl methane sulfonate (EMS), so in this research project work EMS was used as an inducer. of the genetic variability in 5 treatments and in a time of 24 hours, in three repetitions in the seeds of national alfalfa (*Medicago sativa*) with which genomic variety is sought in the DNA of the seed both in germination and in the morphology of plant. This research project was carried out at the Technical University of Babahoyo in the Faculty of Agricultural Sciences, School of Veterinary Medicine and Zootechnics. The objective of the study is to evaluate the morphological characterization of the national alfalfa (*Medicago sativa*) induced by Ethyl methane sulfonate. An experimental design was used to later be sown in germination trays within the nursery and the test field to determine its germination and adaptability to tropical conditions. The information was carried out through a completely random design with the 5 treatments (T1: Control (Water) , T2: 0.25% EMS, T3: 0.50% EMS, T4: 0.75% EMS and T5: 1.00% EMS).

The behavior of the Alfalfa crop with the impregnation in different doses in each treatment 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: Ethyl methane sulfonate, mutagenesis, induced, germination, genetic variability inducer

X. BIBLIOGRAFÍAS

- AGROBIT. (2007). Enfermedades de la alfalfa. *Documento de plantas*,
https://agrobit.com/Documentos/A_1_1_Alfalfa/318_ag_000008al.htm.
- Amaiquema, R. C. (2022). *Utilización de rayos gamma en alfalfa (Medicago sativa) en condiciones tropicales*[Tesis de titulación, Medica Veterinaria Zootecnista, Universidad Técnica De Babahoyo, faciag].
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/13088/E-UTB-FACIAG-MVZ-000110.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- ANSO. (2015). Enfermedades y plagas de la alfalfa. obtenido
de:<http://www.satanso.com/noticia.php/es/Enfermedades-plagas-Alfalfa/56>.
- Bautista, P. K. (2020). *“Aplicación de distintas dosis de etilmetanosulfonato (EMS) en semillas y plántulas de Gmelina arborea Roxb. (melina) en etapa de vivero”*[tesis para Maestría en manejo forestal sostenible, Universidad Estatal de Quevedo].
- Bustamante, D. R. (2013). *“FERTILIZANTES FOLIARES EN EL CULTIVO DE ALFALFA CUF 101 (Medicago sativa L.) EN LA GRANJA LA COLINA C.A. DEL CANTÓN ARENILLAS - EL ORO - ECUADOR”*[Tesis de titulación, Ing. Agropecuario, Universidad Técnica Estatal De Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2739/1/T-UTEQ-0331.pdf>.
- Cadena, L. (2022). *Validación del uso de ems (etil metasulfonato) en alfalfa [Medica Veterinaria y zootecnia, Universidad Técnica de Babahoyo]*. repositorio faciag.
- Chariguaman, A. (2014). *“EVALUACIÓN DE DOS NIVELES DE FERTILIZACIÓN MAS DOS TIPOS DE TUTOREO Y TRES DOSIS DE ETEPHON PARA IGUALAR LAMADURACIÓN DE LA SEMILLA DE ALFALFA (Medicago sativa L.) EN LA LOCALIDAD UBICADA EN LA PARROQUIA ELOY ALFARO BARRIOSARAPAMBA – COTOPAXI”*.
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2581/1/T-UTC-00118.pdf>.

- Coral, N. R. (2015). *Efectos de la fertilización química-orgánica en el rendimiento de dos variedades de Alfalfa (medicago sativa L.), en la Comunidad de Calpaqui, provincia de Imbabura [Ingeniero Agrónomo, Universidad Tecnica de Babahoyo]*.
<http://dspace.utb.edu.ec/>, LOS RIOS , Ecuador - costa .
- Coral, R. T. (2015). *Efectos de la fertilización química-orgánica en el rendimiento de dos variedades de Alfalfa (medicago sativa L.), en la Comunidad de Calpaqui,provincia de Imbabura.[Tesis de titulacion para Ing. Agronomo, Universidad Tecnica De Babahoyo, faciag]*. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/738/T-UTB-FACIAG-AGR-000142.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Cruz, M. Z. (2014). *Efectos de cinco niveles de Radiaciones Gamma en el cultivo de arroz (Oryza sativa l)[Tesis de titulacion de ing. Agronomo, Universidad Tecnica De Babahoyo]*.
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/834/T-UTB-FACIAG-AGR-000094.pdf?sequence=8&isAllowed=y>.
- D´Attellis, R. A. (2005). Alfalfa (Medicago sativa L.) Produccion de semilla, Catamarca.
<https://es.scribd.com/document/38499514/Produccion-de-Alfalfa#>.
- Diana, C. P. (2019). *EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE Medicago sativa SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS E INDICADORES ORGANOLÉPTICOS DE LA CANAL DE POLLOS BROILER[Tesis de titulacion, Medica Veterinaria Zootecnista, Universidad Tecnica De Machala]*.
http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/13862/1/DE00002_TRABAJODE TITULACION.pdf.
- ELIANA, C. G. (2014). *“EVALUACIÓN DE DOS NIVELES DE FERTILIZACIÓN MAS DOSTIPOS DE TUTOREO Y TRES DOSIS DE ETEPHON PARA IGUALAR LAMADURACIÓN DE LA SEMILLA DE ALFALFA (Medicago sativa L.) EN LALOCALIDAD UBICADA EN LA PARROQUIA ELOY ALFARO BARRIO SARAPAMBA – COTOPAXI”*.
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2581/1/T-UTC-00118.pdf>.
- ELIANA, C. G. (2014). *EVALUACIÓN DE DOS NIVELES DE FERTILIZACIÓN MAS DOS TIPOS DE TUTOREO Y TRES DOSIS DE ETEPHON PARA IGUALAR LA MADURACIÓN DE LA SEMILLA*

DE ALFALFA (Medicago) EN LA LOCALIDAD UBICADA EN LA PARROQUIA ELOY ALFARO BARRIO SARAPAMBA – COTOPAXI [Ing. Agronoma,UTC]. <http://repositorio.utc.edu.ec/>.

Fuentes, V. (2019). *EFEECTO 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.*[tesis, Magister en manejo forestal sostenible, Universidad Tecnica Estatal de Quevedo].
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6400/1/T-UTEQ-19.pdf>.

Gomez , P. (2008). *Enfermedades producidas por hongo. Protección de cultivos Enfermedades de leguminosas forrajeras,*
https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2013/427/52020/1/Documento36.pdf.

Gomez, J. C. (2023). *MEJORAMIENTO GENETICO EN PASTO JANEIRO(Eriochloa polystachya)[articulo cientifico, universidad tecnica de babahoyo].*
<file:///C:/Users/OSWALDO%20MORAN/Downloads/adminMEJORAMIENTOGENETICOEN PASTOJANEIRO1.pdf>.

Gomez, R. (2020). *INDUCCIÓN MUTAGÉNICA EN CULTIVARES DE Eustoma grandiflorum MEDIANTE EL USO DE METANOSULFONATO DE ETILO (EMS).*[Tesis para la obtencion de grado, Maestro en Ciencia de la floricultura, Centro de investigacion y asistencia en tecnologia D. E. jalisco A,C].
<https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/746/1/Rafael%20Mendoza%20G%C3%B3mez%20Bio.pdf>.

Guamaní Chiluiza Miguel Ángel, Q. M. (s.f.). *“ELABORACIÓN DE UN BALANCEADO A PARTIR DE DESECHOS “ELABORACIÓN DE UN BALANCEADO A PARTIR DE DESECHOS A TRES CONCENTRACIONES FORTIFICADO CON ALFALFA (Medicago sativa L.) Y PECUTRIN PARA CUYES DE ENGORDE.”*[Tesis, Ing. Agroindustriales, UTC].
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2627/1/T-UTC-00163.pdf>.

Guanoluisa, W. C. (2007). *RESPUESTA DEL CULTIVO DE ALFALFA(Medicago Sativa) A LA INCORPORACION ORGANICA EN FINCAS DE PEQUEÑOS PRODUCTORES*[tesis para titulo

de Ingeniero Agropecuario].

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6711/1/UPS-YT00005.pdf>.

Guanopatin, M. R. (2012). *APLICACIÓN DE BIOL EN EL CULTIVO ESTABLECIDO DE ALFALFA (Medicago sativa)[proyecto de investigacion para obtencion de titulo de Ign. Agronoma, Universidad tecnica de ambato]*.

https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/969/1/Tesis_009agr.pdf.

Herrera, I. C. (2021). *“MUTAGÉNESIS INDUCIDA EN Eriochloa polystachya MEDIANTE ETIL-METASULFONATO Y SU EFECTO SOBRE EL CONTROL DE Mahanarva andigena BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO”[Maestria en Agronomia, mencion en proteccion vegetal, Universidad Tecnica de Babahoyo]*.

<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10070/C-UTB-CEPOS-MPV-000001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Maria, C. C. (2021). *Evaluación del efecto de un repolarizador celular a diferentes concentraciones, en el cultivo de alfalfa(Medicago sativa var.CUF 101), a traves de parametros productivos[tesis para titulo de Medico Veterinario Zootecnista, Universidad Central del Ecuador]*.

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25037/1/UCE-FMVZ-SUB-CAIZA%20MARIA.pdf>.

Melendrez, E. J. (2022). *“EVALUACIÓN DE CUATRO VARIEDADES DE ALFALFA Medicago sativa), EN EL CASERÍO JICATE, DISTRITO Y PROVINCIA DE HUANCABAMBA”[tesis para titulo de Ing. Zootecnista, Universidad Nacional de Piura]*.

<https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/3929/ZOOT-MEL-NEI-2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Patiño, C. V. (2013). *“Comportamiento agronómico del cultivo de la alfalfa (Medicago sativa L.) a la aplicación de tres tipos de abonadura orgánica en el cantón Pimampiro provincia de Imbabura”[Tesis de titulo de Ing. Agronomo, Universidad Tecnica De Babahoyo]*.

<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/500/T-UTB-FACIAG-AGR-000085.pdf?sequence=6&isAllowed=y>.

- Pombosa, A. P. (2016). *“DETERMINACIÓN DE LAS ETAPAS FENOLÓGICAS DEL CULTIVO DE ALFALFA (Medicago sativa) VAR. MORADA PAISANA BAJO LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS DEL CANTÓN CEVALLOS”*.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/19819/1/Tesis-123%20%20Ingenier%20Agron%20CD%20383.pdf>.
- Salvador, L. (2012). *“RESPUESTA A LA FERTILIZACIÓN QUÍMICA, ORGÁNICA Y QUÍMICA-ORGÁNICA EN PRADERAS DE ALFALFA (Medicago sativa L.), EN LA COMUNIDAD DE COCHAPAMBA DE LA PARROQUIA TENTA DEL CANTON SARAGURO PROVINCIA DE LOJA [tesis para Médico veterinario zootecnista, U.N.L.]*.
<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5410/1/TESIS%20LUIS%20SALVADOR%20JAPON%20e2%80%9cRESPUESTA%20A%20LA%20FERTILIZACION%20QUIMICA%20ORGANICA%20Y%20QUIMICA-ORGANICA%20EN%20PRADERAS%20DE%20ALFALFA%20Medicago%20>
- Sanchez, I. (2011). Principales de la enfermedades de la alfalfa (medicago sativa L.) en la Comarca Lagunera de Coahuila. *repositorio*,
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2512/Principales%20enfermedades%20de%20la%20alfalfa%20Medicago.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Tello, D. M. (2017). *Efecto de la radiación gamma y metanosulfonato de etilo (EMS) en la germinación y crecimiento de semillas de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.), bajo condiciones de vivero en la región San Martín [tesis para Ing. Agronomo, UNSM]*.
<https://tesis.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3148/1/AGRONOMIA%20-%20Deyvi%20Mendoza%20Tello.pdf>.
- Trujillo, D. E. (2010-2011). *“Sustitución De Alfarina Por Harina De Follaje De Camote Morado, Con Niveles De 0%, 50% Y 100%, En La Dieta De Cobayos Durante La Fase De Crecimiento Y Finalización” [Tesis de titulación, Médico Veterinario Zootecnista, Universidad De Guayaquil]*.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/6912/1/Quimba%20Trujillo.pdf>.
- VITERI, W. V. (2019). *FENOLOGÍA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y MANEJO DE LAS VARIEDADES DE ALFALFA EN EL CANTÓN RIOBAMBA [TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTORIS*

PHILOSOPHIAE EN CIENCIA ANIMAL, UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA].
Repositorio.lamolina, Lima - Peru.

Yagual, C. A. (2019). *DETERMINACIÓN DE PLOMO EN EXTRACTO ALFALFA USADOS EN JUGOS NATURALES, EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS DE LA MUNICIPALIDAD DE GUAYAQUIL*[Tesis de titulación, Ing. Ambiental, Universidad De Guayaquil].
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/44686/1/CAROLINA%20CRUZ%20TESIS.pdf>.

ANEXOS

Anexo 1. Altura de planta en la semana 1

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,79	0,70	19,38%

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	305,11	4	76,28	9,22	0,0022
MUTAGENO QUIMICO	305,11	4	76,28	9,22	0,0022
Error	82,73	10	8,27		
Total	387,84	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,72879					
Error: 8,2725 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	18,88	3	1,66	A	
0.00% EMS	18,47	3	1,66	A	
0.25% EMS	16,97	3	1,66	A	
1.00% EMS	13,07	3	1,66	A	B
0.75% EMS	6,81	3	1,66		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 2. Altura de planta en la semana 2

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,89	0,85	12,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	564,39	4	141,10	20,28	0,0001
MUTAGENO QUIMICO	564,39	4	141,10	20,28	0,0001
Error	69,56	10	6,96		
Total	633,96	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,08737					
Error: 6,9564 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	25,55	3	1,52	A	
0.00% EMS	25,00	3	1,52	A	
0.25% EMS	24,96	3	1,52	A	
1.00% EMS	19,17	3	1,52	A	
0.75% EMS	9,49	3	1,52		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 3. Altura de planta en la semana 3

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,51	0,31	14,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	221,18	4	55,30	2,56	0,1044
MUTAGENO QUIMICO	221,18	4	55,30	2,56	0,1044
Error	216,41	10	21,64		
Total	437,60	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,50074					
Error: 21,6414 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	34,77	3	2,69	A	
0.75% EMS	34,24	3	2,69	A	
0.25% EMS	34,10	3	2,69	A	
0.00% EMS	30,40	3	2,69	A	
1.00% EMS	24,60	3	2,69	A	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 4. Altura de planta en la semana 4

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	15	0,62	0,47	12,22

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	418,94	4	104,73	4,12	0,0315
MUTAGENO QUIMICO	418,94	4	104,73	4,12	0,0315
Error	254,01	10	25,40		
Total	672,95	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=13,54305					
Error: 25,4008 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	46,32	3	2,91	A	
0.25% EMS	45,81	3	2,91	A	
0.75% EMS	44,50	3	2,91	A	
1.00% EMS	35,20	3	2,91	A	
0.00% EMS	34,47	3	2,91	A	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 5. Diámetro de planta en la semana 1

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,62	0,47	23,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	4	0,01	4,11	0,0317
MUTAGENO QUIMICO	0,02	4	0,01	4,11	0,0317
Error	0,01	10	1,4E-03		
Total	0,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10054					
Error: 0,0014 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	0,22	3	0,02	A	
0.25% EMS	0,17	3	0,02	A	B
0.00% EMS	0,16	3	0,02	A	B
0.75% EMS	0,14	3	0,02	A	B
1.00% EMS	0,10	3	0,02		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 6. Diámetro de planta en la semana 2

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,81	0,73	17,91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	4	0,02	10,61	0,0013
MUTAGENO QUIMICO	0,06	4	0,02	10,61	0,0013
Error	0,01	10	1,50E-03		
Total	0,08	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10361					
Error: 0,0015 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	0,34	3	0,02	A	
0.25% EMS	0,21	3	0,02		B
0.00% EMS	0,2	3	0,02		B
0.75% EMS	0,17	3	0,02		B
1.00% EMS	0,16	3	0,02		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 7. Diámetro de planta en la semana 3

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,69	0,57	22,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	4	0,02	5,57	0,0127
MUTAGENO QUIMICO	0,06	4	0,02	5,57	0,0127
Error	0,03	10	2,70E-03		
Total	0,09	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14014					
Error: 0,0027 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	0,35	3	0,03	A	
0.25% EMS	0,25	3	0,03	A	B
0.75% EMS	0,21	3	0,03	A	B
0.00% EMS	0,2	3	0,03		B
1.00% EMS	0,16	3	0,03		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 8. Diámetro de planta en la semana 4

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAMETRO	15	0,76	0,67	14,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	4	0,01	8,04	0,0036
MUTAGENO QUIMICO	0,05	4	0,01	8,04	0,0036
Error	0,01	10	1,50E-03		
Total	0,06	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10338					
Error: 0,0015 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	0,38	3	0,02	A	
0.25% EMS	0,27	3	0,02		B
0.75% EMS	0,26	3	0,02		B
0.00% EMS	0,25	3	0,02		B
1.00% EMS	0,21	3	0,02		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 9. Ramas de planta en la semana 1

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,67	0,54	14,72

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	24,61	4	6,15	5,19	0,0159
MUTAGENO QUIMICO	24,61	4	6,15	5,19	0,0159
Error	11,87	10	1,19		
Total	36,48	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,92723					
Error: 1,1867 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	9,13	3	0,63	A	
0.25% EMS	8,00	3	0,63	A	B
0.00% EMS	7,67	3	0,63	A	B
0.75% EMS	6,93	3	0,63	A	B
1.00% EMS	5,27	3	0,63		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 10. Ramas de planta en la semana 2

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,8	0,72	13,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	59,08	4	14,77	9,82	0,0017
MUTAGENO QUIMICO	59,08	4	14,77	9,82	0,0017
Error	15,04	10	1,5		
Total	74,12	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,29547					
Error: 1,5040 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.00% EMS	11,07	3	0,71	A	
0.25% EMS	10,73	3	0,71	A	
0.50% EMS	9,27	3	0,71	A	B
1.00% EMS	6,6	3	0,71		B
0.75% EMS	6,4	3	0,71		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 11. Ramas de planta en la semana 3

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,8	0,72	13,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	80,65	4	20,16	9,87	0,0017
MUTAGENO QUIMICO	80,65	4	20,16	9,87	0,0017
Error	20,43	10	2,04		
Total	101,08	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,84054						
Error: 2,0427 gl: 10						
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.			
0.25% EMS	13,47	3	0,83	A		
0.50% EMS	12,13	3	0,83	A		
0.00% EMS	11,47	3	0,83	A	B	
1.00% EMS	8,2	3	0,83		B	C
0.75% EMS	7,47	3	0,83			C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)						

Anexo 12. Ramas de planta en la semana 4

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAMAS	15	0,88	0,83	8,06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	72,6	4	18,15	18,1	0,0001
MUTAGENO QUIMICO	72,6	4	18,15	18,1	0,0001
Error	10,03	10	1		
Total	82,63	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,69074						
Error: 1,0027 gl: 10						
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.			
0.50% EMS	15,13	3	0,58	A		
0.25% EMS	13,93	3	0,58	A	B	
0.00% EMS	12,93	3	0,58	A	B	
0.75% EMS	11,33	3	0,58		B	C
1.00% EMS	8,8	3	0,58			C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)						

Anexo 13. Numero de hojas de planta en la semana 1

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,82	0,75	13,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	520,18	4	130,04	11,70	0,0009
MUTAGENO QUIMICO	520,18	4	130,04	11,70	0,0009
Error	111,12	10	11,11		
Total	631,30	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,95755						
Error: 11,1120 gl: 10						
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.			
0.00% EMS	33,20	3	1,92	A		
0.50% EMS	27,40	3	1,92	A	B	
0.25% EMS	24,00	3	1,92		B	C
0.75% EMS	20,80	3	1,92		B	C
1.00% EMS	15,80	3	1,92			C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)						

Anexo 14. Numero de hojas de planta en la semana 2

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,8	0,72	13,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	531,7	4	132,92	9,82	0,0017
MUTAGENO QUIMICO	531,7	4	132,92	9,82	0,0017
Error	135,36	10	13,54		
Total	667,06	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,88640					
Error: 13,5360 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.00% EMS	33,2	3	2,12	A	
0.25% EMS	32,2	3	2,12	A	
0.50% EMS	27,8	3	2,12	A	B
1.00% EMS	19,8	3	2,12		B
0.75% EMS	19,2	3	2,12		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 15. Numero de hojas de planta en la semana 3

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,8	0,72	13,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	725,86	4	181,46	9,87	0,0017
MUTAGENO QUIMICO	725,86	4	181,46	9,87	0,0017
Error	183,84	10	18,38		
Total	909,7	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,52161						
Error: 18,3840 gl: 10						
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.			
0.25% EMS	40,4	3	2,48	A		
0.50% EMS	36,4	3	2,48	A		
0.00% EMS	34,4	3	2,48	A	B	
1.00% EMS	24,6	3	2,48		B	C
0.75% EMS	22,4	3	2,48			C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)						

Anexo 16. Numero de hojas de planta en la semana 4

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HOJAS	15	0,91	0,87	7,5

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	766,45	4	191,61	24,93	<0,0001
MUTAGENO QUIMICO	766,45	4	191,61	24,93	<0,0001
Error	76,85	10	7,68		
Total	843,3	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,44913					
Error: 7,6847 gl: 10					
MUTAGENO QUIMICO	Medias	n	E.E.		
0.50% EMS	45,4	3	1,6	A	
0.25% EMS	41,8	3	1,6	A	
0.00% EMS	38,8	3	1,6	A	B
0.75% EMS	34	3	1,6		B
1.00% EMS	24,77	3	1,6		C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 17. Germinación de plántulas de alfalfa Nacional

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Semillas Germinadas	15	0,30	0,02	42,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1129,07	4	282,27	1,07	0,4212
Tratamientos	1129,07	4	282,27	1,07	0,4212
Error	2640,67	10	264,07		
Total	3769,73	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=43,66665				
Error: 264,0667 gl: 10				
Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0.00% EMS	50,00	3	9,38	A
0.25% EMS	46,67	3	9,38	A
0.75% EMS	33,33	3	9,38	A
0.50% EMS	33,33	3	9,38	A
1.00% EMS	27,33	3	9,38	A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Anexo 18. Fotografías del proceso de investigación



a) día de impregnación con EMS



b) día de enjuague con agua destilada



c) siembra en bandejas germinativa



d) siembra en el terreno de prueba



e) germinación en bandejas dentro del vivero prueba



f) germinación en el terreno de diferentes tratamientos



g) riego dos veces por día



h) control de humedad por surcos