



Radiosensibilidad del arroz (*Oryza sativa* L. var CR5272) por irradiación gamma en Costa Rica

Radiosensitivity of rice (*Oryza sativa* L. var CR5272) to gamma irradiation in Costa Rica

 Mairon Madriz-Martínez*,  Alexis Fernández-Acuña,  Silvia Hernandez-Villalobos,  Rafael Orozco-Rodríguez,  Juan Argüello-Delgado

Escuela de Ciencias Agrarias, Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar, Universidad Nacional de Costa Rica (UNA).

RESUMEN: Para el mejoramiento genético de plantas se han utilizado las mutaciones inducidas. Un paso previo a esto es el estudio de la radiosensibilidad del material a trabajar, ya que permite observar el efecto sobre el material vegetal y definir la dosis adecuada. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la radiosensibilidad de semillas de arroz (*Oryza sativa* L. var CR5272), sometidas a irradiación gamma con ^{60}Co . Se evaluaron siete dosis: desde 100 hasta 700 Grays (Gy) con incrementos de 100 Gy, comparadas con un testigo sin irradiar (T0). Las variables se evaluaron, a los siete días el porcentaje de germinación y a los 21 días, la longitud del tallo y de la raíz. Los valores de las variables disminuyeron conforme se incrementó la dosis de irradiación. La mayor germinación y longitud de tallo se dio a los 100 y 200 Gy; sin embargo, ninguno tuvo una diferencia estadística con respecto al testigo; la longitud de la raíz se incrementó en un 12,74 %, con radiación de 100 Gy, en relación con el tratamiento sin irradiar. La dosis letal media (DL50) se estableció en 674 Gy para el porcentaje de germinación, en 380 Gy para la longitud del tallo y 274 para la raíz. La correlación entre los niveles de radiación y longitud de tallo y de raíz ($R=0,92$ y $R=0,85$) fue significativa, no así en la germinación ($R=0,54$). Se logró realizar la radiosensibilidad para semillas de arroz (*Oryza sativa* L. var CR5272) y se estableció un rango de 300-400 Gy de irradiación, como dosis efectiva, adecuada para inducir mutaciones favorables en esta variedad.

Palabras clave: cobalto, DL, fitomejoramiento, mutación.

ABSTRACT: Induced mutations have been used for the genetic plant breeding. A previous step to this is the material radiosensitivity study to be worked on, since it allows observing the effect on the plant material and defining the adequate dose. The aim of this work was to determine the radiosensitivity of rice seeds (*Oryza sativa* L. var CR5272), subjected to gamma irradiation with ^{60}Co . Seven doses were evaluated: from 100 to 700 Grays (Gy) with increments of 100 Gy, compared with a control without irradiation (T0). The variables were evaluated: at seven days, germination percentage and at 21 days, stem and root length. Variable values decreased as the irradiation dose increased. The highest germination and stem length occurred at 100 and 200 Gy; however, neither had a statistical difference with respect to the control; root length increased by 12.74 %, with 100 Gy irradiation, in relation to the non-irradiated treatment. The median lethal dose (LD50) was established at 674 Gy for germination percentage, 380 Gy for stem length and 274 for root length. The correlation between radiation levels and stem and root length ($R=0.92$ and $R=0.85$) was significant, but not for germination ($R=0.54$). Radiosensitivity was achieved for rice seeds (*Oryza sativa* L. var CR5272) and a range of 300-400 Gy of irradiation was established as an effective dose, adequate to induce favorable mutations in this variety.

Key words: cobalt, LD, plant breeding, mutation.

*Autor para correspondencia: mairon.madriz.martinez@una.cr; alexis-fa@hotmail.com

Recibido: 15/08/2020

Aceptado: 11/08/2021

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa*) es considerado como uno de los cultivos de mayor importancia para la alimentación mundial, ya que es el alimento básico de más de la mitad de la población del mundo. El crecimiento acelerado de la población, la menor cantidad de recursos y tierras disponibles, así como la incertidumbre climática que provoca nuevas razas de enfermedades y plagas, son una amenaza a la seguridad alimentaria; por lo tanto, es urgente aumentar la diversidad del cultivo con mejoras en la eficiencia, para hacer frente a los retos futuros, para ello se han buscado herramientas para la modificación y el mejoramiento genético del arroz, entre ellas la aplicación de radiaciones (1,2).

El uso de radiaciones ionizantes es una técnica que genera alteraciones en el material vegetal, lo que permite inducir variabilidad genética, la cual resulta muy eficiente en la obtención de mutantes que permite el mejoramiento de cultivos en rasgos específicos con características deseadas de importancia agronómica (3,4). Los rayos gamma son un agente mutágeno físico que tienen una longitud de onda baja y un alto poder de penetración, causan mutaciones genéticas en los organismos vivos, las cuales se distribuyen aleatoriamente en el genoma (3).

La aplicación de radiaciones gamma se usa para ampliar la variabilidad genética y crear nuevas variedades con genotipos superiores en poco tiempo, para que su aplicación sea eficiente se debe efectuar ensayos que permitan determinar la dosis de irradiación óptima la cual dependerá de las características físicas del material vegetal, al evaluar la radiosensibilidad de los tejidos a diferente intensidad, lo que busca es familiarizarse con los efectos de las radiaciones sobre éste, así como para evaluar el porcentaje de sobrevivencia de los materiales a las dosis (5).

Existe una mayor probabilidad de producir mutaciones efectivas para hacer fitomejoramiento con dosis donde mueren el 50 % de los individuos irradiados, esto es conocido como dosis letal media (6). Por otra parte, el genoma sufre múltiples impactos con dosis altas que producen aberraciones o cambios negativos comúnmente (7).

Según More y Borkar (8) la efectividad en la producción de mutaciones disminuye conforme se aumenta la dosis de rayos gamma ya que estos pueden causar alteración de caracteres fisiológicos. El efecto biológico de los rayos gamma se debe a la interacción de átomos o moléculas en la célula, particularmente en el agua, para producir radicales libres (9).

Estos radicales pueden dañar o cambiar componentes importantes de las células vegetales, se ha reportado que afectan diferencialmente la morfología, la anatomía, la bioquímica y la fisiología de las plantas, dependiendo de las dosis de radiación (10).

Más de 2200 variedades de cultivos fueron lanzados a finales del siglo pasado usando mutagénesis por irradiación; de ellos 434 son variedades de arroz (11). En Costa Rica, en la década de los 90, se utilizó esta técnica para obtener el mutante CAMAGO-8, el cual se seleccionó por su tolerancia a *Pyricularia* y por su alto rendimiento, esta variedad se sembró por varios años en fincas de productores en la región de Guanacaste, hasta que la tolerancia al hongo no se mantuvo (12).

En Costa Rica para el periodo 2017/2018 el consumo nacional de arroz pilado fue de 239 707 t (13) con un consumo per cápita que ronda los 50 kg, se estima que el consumo de arroz mundial para el 2020 será de 763 millones de toneladas, con un incremento de 852 millones de toneladas para el 2035 (14,15), valores que revelan la importancia de este cereal en la dieta global y de los costarricense, convirtiéndolo en un elemento fundamental de la seguridad alimentaria, debido a esto, es importante contar con programas de mejoramiento genético que ayuden a optimizar la calidad del cultivo de arroz y así abastecer la demanda en un futuro; es por ello, que el presente estudio tuvo como objetivo, determinar la radiosensibilidad de semillas de arroz de la var. CR5272 y así determinar la DL50 para este cultivar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional (UNA). Se utilizaron semillas del cultivar CR5272 (*Oryza sativa* cv CR5272) con germinación del 92 % y la humedad entre 11-13 %, las cuales fueron irradiadas con siete dosis de rayos gamma (100, 200, 300, 400, 500, 600 y 700 Gy) y un testigo sin irradiar.

Las semillas se irradiaron utilizando una fuente de cobalto (^{60}Co) con una tasa de irradiación de 60 Gy/minuto en un Gammacell del Laboratorio de irradiación gamma del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Cartago, Costa Rica. Se utilizaron 160 semillas para cada tratamiento.

Después de la irradiación las semillas se sembraron con el método de muñeca, el cual consistió en colocar las semillas en pliegos de papel periódico con dimensiones de 36,5 cm largo x 26 cm de ancho, en la parte más larga del papel a 1 cm del borde y con un espaciamiento de 0,9 cm por semilla. Una vez colocadas las semillas, el papel se humedeció con agua destilada y se enrolló el papel en forma de cilindro y se colocó en un beaker de 3 litros con agua a tres cuartos del pliego de papel, estos se colocaron en una cámara de germinación por siete días, la cámara se mantuvo a 85 % de humedad y 30 °C. Después de la germinación todas las semillas se colocaron en el invernadero hasta cumplir los 21 días.

Se implementó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones por tratamiento y cada repetición compuesta por 40 semillas. Cada unidad experimental estuvo conformada por una planta. La radiosensibilidad de las semillas se evaluó por medio del porcentaje de germinación, la longitud del tallo (de la base al ápice de la hoja más larga) y longitud de raíz (de la base a la parte más distal de la raíz más larga) de las plántulas. La evaluación se realizó a los siete días para germinación y a los 21 días para longitud de tallo y raíz.

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre las variables evaluadas se realizó un análisis de varianza de comparación de medias, para la longitud de tallo, raíz y germinación, mediante la prueba de LSD Fisher ($p < 0,05$), utilizando el paquete estadístico INFOStat. Las variables se evaluaron mediante un DMR en R para determinar la DL50 con un modelo no lineal de tres parámetros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

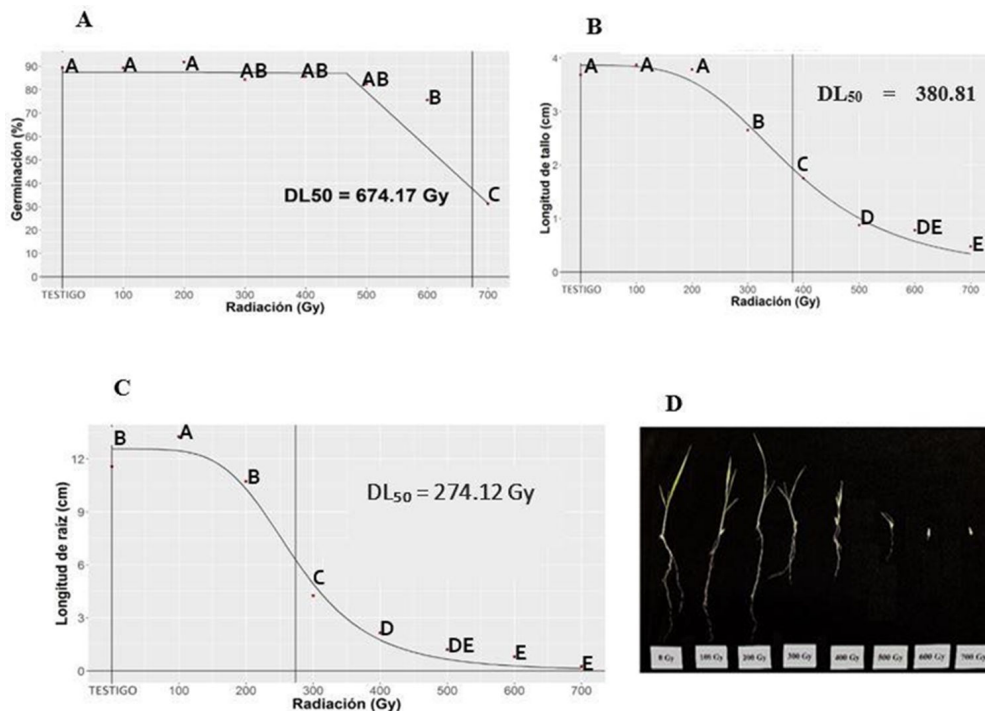
El análisis de varianza indicó que la radiación entre 100 Gy y 500 Gy no mostró efectos significativos en la germinación de las plantas de arroz. Con ese rango de radiación la germinación fue parecida al testigo sin irradiar, no hubo una diferencia significativa ($p>0,05$) (Figura 1a). En un ensayo con 13 cultivares de arroz irradiados, encontraron que el incremento de dosis de radiación gamma no tuvo un efecto significativo en la germinación de semillas con ninguna dosis (16). La radiación aumenta la sensibilidad de las plantas a los rayos gamma, el efecto estimulante de los rayos gamma sobre la germinación puede atribuirse a la activación del ARN o la síntesis de proteínas y ocurrir durante la etapa inicial de la germinación después de la irradiación de las semillas, el aumento de la dosis de radiación puede ser responsable de una menor incapacidad de germinación; sin embargo, ciertos genotipos poseen diferente sensibilidad a la irradiación con rayos gamma (16,17).

Los tratamientos de 600 Gy y 700 Gy sí presentaron diferencias significativas ($p>0,05$) con respecto al testigo (efecto radio inhibitor) (Figura 1a), en 700 Gy ($p<0,0001$) el porcentaje de germinación disminuyó hasta un 66 % (Figura 1d). Esto concuerda con los resultados obtenidos al irradiar dos variedades de arroz, la dosis más alta (500 Gy) fue la que provocó una mayor inhibición en la germinación con un 53,75 % y 51,54 %, respectivamente, para las variedades de arroz ADT-37 y ADT (R)-45 (18). En otra clase de gramíneas, como en el pasto llorón, la germinación decayó de 98 % a 36 % al incrementar la dosis de irradiación de 300 a 400 Gy y en pasto africano pasó de un 98 % de germinación en el testigo sin irradiar, hasta valores de

1 % al utilizar 900 Gy (19-21). Dosis altas de irradiación pueden causar lesiones a nivel génico y cromosómico que son letales para las células en división, lo que provocan daños fisiológicos que inhiben las funciones vitales de las células, como daño a los tejidos embrionarios, división celular anormal y mutación, esto puede provocar la muerte del embrión en la semilla, lo que causa una disminución en la germinación (22,23).

La dosis en la que la germinación tuvo el valor más próximo a la DL50 se encontró en 674 Gy según el análisis estadístico, en otro estudio para la variedad de arroz IBD1 la DL50 se encontró en la dosis 564,5 Gy (1), mientras que en un ensayo con dos variedades de arroz (MRQ74 y MR269) la DL50 se encontró entre los 351 y 365 Gy, la DL50 fue a los 300,3 Gy y 300 Gy para los cultivares de arroz ADT-37 y ADT (R)-45, respectivamente; mientras que en la DL50 en el cultivar Anna (R)4 en India, fue a los 376,5 Gy (18,24,25).

En cuanto a la altura del tallo, los datos muestran que el incremento de dosis de 0-200 Gy en la radiación, no presentó diferencias significativas con respecto al testigo ($p>0,05$), pero conforme las dosis de irradiación se incrementaron, la altura de las plantas disminuyó; a partir de 300 Gy la disminución en la altura de las plantas fue de un 28 %, mientras que a una dosis de 700 Gy la disminución en la altura fue de un 87 %. Otros resultados mostraron que dos líneas de arroz (G10 y G16), así como el cultivar Baas Selem, disminuyeron la altura de la planta, conforme se incrementaron las radiaciones desde 200 Gy hasta 500 Gy (2), mientras que en un ensayo con las variedades ADT-37 y ADT (R)-45 la disminución en la altura correspondió a 63,15 % y 65,37 %, respectivamente,



Letras mayúsculas distintas significan diferencias estadísticas. LSD Fisher ($p<0,05$)

Figura 1. Irradiación con ^{60}Co en semillas de arroz (*Oryza sativa* L. var CR5272) y su efecto sobre: el porcentaje de germinación (a); longitud del tallo (b); longitud de la raíz (c) y sensibilidad de CR5272 desde 0 hasta 700 Gy (d).

en la dosis de 500 Gy (18). Lo anterior indica que altas dosis de radiación gamma en semillas, tienen un efecto negativo sobre el crecimiento de la planta, esto puede deberse a que la radiación gamma causa destrucción de compuestos importantes para el desarrollo vegetal, como son, las enzimas, las auxinas y el ácido ascórbico, lo que provoca daños en el proceso de división y elongación celular (20,22,26). Altas dosis de radiación también pueden afectar la estructura del ADN, provocando anomalías en la secuencia de nucleótidos que, a su vez, induce transcripciones defectuosas, inactiva productos proteicos, dando como resultado la inhibición del crecimiento vegetativo (22,23).

La dosis letal media (DL50) para la longitud de planta evaluada por medio del análisis estadístico se encontró en 380 Gy (Figura 1b). En contraste para la variedad de arroz MR284 la DL50 fue de 400 Gy (27). El fenómeno de estimulación se presentó en las raíces, según el análisis de varianza se encontraron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento de 100 Gy ($p < 0,0001$), ya que las semillas que fueron irradiadas con esta dosis presentaron la mayor longitud de la raíz (Figura 1c). Esta misma situación se presentó en otros cultivos como el tomate, donde se observó una respuesta positiva a la irradiación en la longitud de raíz de un 37 %, en relación con el control a dosis bajas, mientras que en un estudio con plantas de girasol para la producción de aceite, la dosis de 200 Gy fue la que mayor estimulación indujo en el indicador de longitud de raíz; así mismo, en árboles forestales, se observó una mejora significativa en la longitud de la raíz a bajas dosis de radiación (28-30).

Se ha demostrado que la radiación a dosis bajas es elemental en plantas, ya que se puede dar un incremento en la estimulación y el desarrollo de estas, al utilizar con mayor eficiencia las vías bioquímico-metabólicas por medio de los radicales libres, iones y moléculas excitadas (31), esto provoca la radioresistencia en las plantas, que es la capacidad de reparación de su sistema para superar el efecto dañino de los estresores y su establecimiento exitoso en condiciones adversas (29).

Al igual que las anteriores dos variables, en el presente estudio con arroz, se observó una reducción en la longitud de la raíz, conforme se incrementó la dosis de rayos gamma a partir de 300 Gy. La menor longitud de la raíz (0,25 cm) se presentó con 700 Gy y fue un 97,8 % menor al tamaño del testigo ($p < 0,0001$). En otro estudio de arroz con la variedad Anna (R), se redujo en un 73,32 % la longitud de raíz con la dosis de 400 Gy, en las variedades de arroz ADT-37 y ADT (R)-45 la longitud de raíz también disminuyó, conforme se incrementaron las dosis de radiación, la mayor reducción de la raíz se observó en la dosis más alta de 500 Gy, con un 66,81 % y un 64,73 % de reducción, respectivamente (18,25). Por otra parte, la exposición a radiaciones altas

puede provocar un daño cromosómico, que provoca que las células no puedan desarrollarse bien y, por lo tanto, no favorecen el desarrollo y crecimiento de la planta, las dosis altas de radiación también reducen la actividad mitótica en los tejidos meristemáticos y la reducción del contenido de humedad en las semillas, lo que provoca una reducción en el largo de la raíz (25,32).

La dosis letal media para la longitud de raíz fue de 274 Gy (Figura 1c), según el análisis estadístico. En contraste, para dos variedades de calabaza, se encontró que la DL50 fue a una dosis de 161-177 Gy, basado en la longitud de raíz (33). Sin embargo, para otros cultivos se requiere dosis más altas, como en el mijo la DL50 se dio a los 500 Gy (6).

Los resultados del presente estudio indican que, de los tres parámetros estudiados, la longitud de tallo y la longitud de la raíz se pueden usar con la misma confiabilidad para estimar las dosis adecuadas de irradiación gamma, para el tratamiento de semillas de arroz en un programa de mejoramiento. Se excluye el indicador de germinación, debido a que su DL50 es en la dosis 674 Gy que fue una de las más altas y en donde se disminuyó la germinación en un 66 %, aparte de que esta dosis de radiación afectó significativamente los otros dos parámetros (Tabla 1). Por lo tanto, se optó por establecer un rango, que comprenda la media ponderada de los parámetros, la longitud de tallo y la longitud de la raíz y se determinó que la DL50 para la del cultivar CR5272 (*Oryza sativa* L. spp. *Indica* cv CR5272) está en el rango de 300 a 400 Gy, que es muy parecido al establecido en otras variedades de arroz, encontrado entre 280 Gy y 350 Gy (34). Con el rango establecido para el cultivar CR5272 se podrá obtener la mayor cantidad de mutantes útiles, con un daño mínimo para la supervivencia de las plantas.

CONCLUSIONES

Este estudio permitió determinar la radiosensibilidad de semillas de arroz de la var. CR5272, y se estableció la DL-50 en el rango de 300 a 400 Gy, como dosis que podría generar cambios en los rasgos genéticos permitiendo la selección de mutantes en fases iniciales.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Biotecnología vegetal y Recursos Genéticos para el Fitomejoramiento (BIOVERFI) de la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA) de la Universidad Nacional (UNA), al Laboratorio de irradiación gamma del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) por la irradiación de la semilla y a la Organización Internacional de Energía Atómica (OIEA) por el proceso de formación y capacitación.

Tabla 1. Resumen de las DL50 obtenidas del análisis dosis-respuesta por medio de modelo no lineal de cada parámetro.

Parámetro	DL50 (Gy)	E.E	T-valor	p-valor
1- Germinación	674,17	8,5136	79,1879	2,2e-16 ***
2- Tallo	380,81	7,157919	53,201	2,2e-16 ***
3- Raíz	274,12	6,45163	42,489	2,2e-16 ***

Signif. códigos: 0 ****' 0.001 ***' 0.01 **' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

BIBLIOGRAFÍA

1. Chauhan A, Kumar V, Iyer PR, Vishwakarma G, Nair JP, Surendran P, et al. Effect of proton beam irradiation on survival and seedling growth parameters of Indian rice (*Oryza sativa* L.) variety 'Indira Barani Dhan 1.' Electronic Journal of Plant Breeding [Internet]. 2019;10(2):490-9. Available from: https://www.researchgate.net/publication/334204440_Effect_of_proton_beam_irradiation_on_survival_and_seedling_growth_parameters_of_Indian_rice_Oryza_sativa_L_variety_Indira_Barani_Dhan_1
2. Suliantini NWS, Wangiyana W, Aryana I, Sudharmawan AAK. Radiosensitivity and Seedling Growth of Several Genotypes of Paddy Rice Mutants Irradiated with Gamma Rays at Different Doses. population [Internet]. 2020;19:21. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Wayan-Wangiyana/publication/348023119_Radiosensitivity_and_Seedling_Growth_of_Several_Genotypes_of_Paddy_Rice_Mutants_Irradiated_with_Gamma_Rays_at_Different_Doses/links/5ff0e70f92851c13fee2f068/Radiosensitivity-and-Seedling-Growth-of-Several-Genotypes-of-Paddy-Rice-Mutants-Irradiated-with-Gamma-Rays-at-Different-Doses.pdf
3. Ramírez AM, Veitia N, García L, Collado R, Torres D, Rivero L, et al. Respuesta *in vitro* de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar Ica Pijao irradiadas con diferentes dosis de radiación Gamma. Biotecnología Vegetal. 2015;15(1).
4. Murugan S, Bharathi T, Ariraman M, Dhanavel D. Effect of Gamma rays on Mitotic Chromosome behaviour of root tip cells in *Catharanthus roseus* (L) G. Don. 2015;6. Available from: <http://www.jpsscintificpublications.com/jpsadmin/uploads/attachments/fde3a66cd61881b53c13948d2fb72080.pdf>
5. Datta SK. Different approaches of mutation breeding technique for development of new ornamental varieties. Available from: https://www.researchgate.net/publication/335110914_Determination_of_Radiosensitivity_Prerequisite_Factor_for_Induced_Mutagenesis
6. Ambavane AR, Sawardekar SV, Sawantdesai SA, Gokhale NB. Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). Journal of Radiation Research and Applied Sciences [Internet]. 2015;8(1):120-5. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.12.004>
7. Salomón Díaz JL, González Cepero MC, Castillo Hernández JG, Varela Nualles M. Efecto de los rayos gamma sobre la germinación de la semilla botánica de papa (*Solanum tuberosum* L.). Cultivos tropicales [Internet]. 2017;38(1):89-91. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362017000100011&lng=es&nrm=iso
8. More AD, Borkar AT. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and EMS in *Phaseolus vulgaris* L. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences [Internet]. 2016 [cited 18/10/2021];5(10):544-54. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.510.061>
9. Kovacs E, Keresztes A. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. Micron [Internet]. 2002;33(2):199-210. Available from: <https://www.science-direct.com/science/article/abs/pii/S0968432801000129>
10. Ashraf M, Cheema AA, Rashid M, Qamar Z. Effect of gamma rays on M~ I generation in basmati rice. Pakistan Journal of Botany [Internet]. 2004;35(5; SPI):791-6. Available from: [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/35\(5\)/PJB35\(5\)13.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/35(5)/PJB35(5)13.pdf)
11. Maluszynski M, Nichterlein K, Van Zanten L, Ahloowalia BS. Officially released mutant varieties- the FAO/IAEA Database. 2000; Available from: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/32/006/32006534.pdf?r=1&r=1
12. Rutger JN, Robinson JF, Dilday RH. Proceedings of the International Symposium on Rice Germplasm Evaluation and Enhancement. :152. Available from: <https://agcomm.uark.edu/agnews/publications/195.pdf>
13. Corporación Arrocera Nacional. Informe Estadístico periodo 2017/2018. CONARROZ [Internet]. Costa Rica: Unidad de Inteligencia de Mercados. Dirección de Operaciones; p. 57. Available from: https://www.conarroz.com/userfile/file/INFORME_ANUAL_ESTADISTICO_PERIODO_2017_2018.pdf
14. Monge-González R, Rivera L. Costa Rica: un proceso de apertura inconcluso. Análisis de Economía Política de la apertura comercial y episodios reveladores. [Internet]. 2020. Available from: https://www.researchgate.net/publication/339213985_COSTA_RICA_UN_PROCESO_DE_APERTURA_INCONCLUSO_ANALISIS_DE_ECONOMIA_POLITICA_DE_LA_APERTURA_COMERCIAL_Y_EPISODIOS_REVELADORES
15. Khush GS. Strategies for increasing the yield potential of cereals: case of rice as an example. Plant Breeding [Internet]. 2013;132(5):433-6. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbr.1991>
16. Harding SS, Johnson SD, Taylor DR, Dixon CA, Turay MY. Effect of gamma rays on seed germination, seedling height, survival percentage and tiller production in some rice varieties cultivated in Sierra Leone. Journal of Experimental Agriculture International [Internet]. 2012;247- 55.
17. Benjavad Talebi A, Benjavad Talebi A. Radiosensitivity study for identifying the lethal dose in MR219 (*Oryza sativa* L. spp. Indica cv. MR219). International Journal of Agricultural Science, Research and Technology in Extension and Education Systems [Internet]. 2012;2(2):63-8. Available from: http://ijasrt.iau-shoushtar.ac.ir/article_517534_b6271a1583352ffcee68ff2c2cbdd2ed.pdf
18. Gowthami R, Vanniarajan C, Souframanien J, Pillai MA. Comparison of radiosensitivity of two rice (*Oryza sativa* L.) varieties to gamma rays and electron beam in M1 generation. Electronic Journal of Plant Breeding [Internet]. 2017;8(3):732-41. Available from: https://www.researchgate.net/publication/320770294_Comparison_of_radiosensitivity_of_two_rice_Oryza_sativa_L_varieties_to_gamma_rays_and_electron_beam_in_M1_generation

19. Álvarez-Holguín A, Corrales-Lerma R, Morales-Nieto CR, Avendaño Arrazate CH, Villarreal- Guerrero F. Dosis óptima de irradiación gamma con ⁶⁰Co para inducción de mutagénesis en pastos. Nova scientia [Internet]. 2017;9(19):65-82. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_art-text&pid=S2007-07052017000200065
20. Álvarez-Holguín A, Morales-Nieto CR, Avendaño-Arrazate CH, Santellano-Estrada E, Melgoza- Castillo A, Burrola-Barraza ME, et al. Dosis letal media y reducción media del crecimiento por radiación gamma en pasto africano (*Eragrostis lehmanniana* Ness). Ecosistemas y recursos agropecuarios [Internet]. 2018;5(13):81-8. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-90282018000100081&script=sci_art-text
21. Rajarajan D, Saraswathi R, Sassikumar D. Determination of lethal dose and effect of gamma ray on germination percentage and seedling parameters in ADT (R) 47 rice. International Journal of Advanced Biological Research [Internet]. 2016;6(2):328-32. Available from: [http://www.scienceand-nature.org/IJABR_Vol6\(2\)2016/IJABR_V6\(2\)16-27.pdf](http://www.scienceand-nature.org/IJABR_Vol6(2)2016/IJABR_V6(2)16-27.pdf)
22. Purwanto E, Nandariyah N, Yuwono SS, Yunindanova MB. Induced mutation for genetic improvement in black rice using Gamma-Ray. AGRIVITA, Journal of Agricultural Science [Internet]. 2019;41(2):213-20. Available from: <https://agrivita.ub.ac.id/index.php/agrivita/article/view/876/1096>
23. Olasupo FO, Ilori CO, Forster BP, Bado S. Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). American Journal of Plant Sciences [Internet]. 2016;7(2):339-51. Available from: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=63844>
24. Kadhimi AA, ALhasnawi AN, Isahak A, Ashraf MF, Mohamad A, Yusoff WMW, et al. Gamma radiosensitivity study on MRQ74 and MR269, two elite varieties of rice (*Oryza sativa* L.). Life Science Journal [Internet]. 2016;13(2):113-7. Available from: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/43421099/Gamma_radiosensitivity_study_on_MRQ74_and-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1634593305&Signature=A6YSgEN1B~FkwEtjgRSN2CuJ-OPjtqZdv-gROel~bTZgqWE0EKIrGFI892HaY5w2bbqjUjz-bYAdVjgTUitRaxBgSNP0SULx8sOC-CYBoxZBT~MUINDqcFTZ8IX-YOC1pa9xWjY0fyek4WDvpWaukxhPKDAGT-DODnTJrNRHVNQ9NqaDNDpIFB58loLawGUn-SY5WB3U67MZ6SH3VlakBwkwLu5SIOOyXU-ZeTX1InDa5AN4CFMAME91ziUZQVUmdLra-JMW6Wr9V0sy7rBgV1OxvAalpuVgCpAeLrm-cYN9XMYsrmoVHRPjBU8YjvciZLYtk4AqV-KllqFs4E7S5AuUt2W6l1w&Key-Pair-Id=APKAJ-LOHF5GGSLRBV4ZA
25. Lalitha R, Arunachalam P, Mothilal A, Senthil N, Hemalatha G, Vanniarajan C, et al. Radiation effect on germination and seedling traits in rice (*Oryza sativa* L.). Electronic Journal of Plant Breeding [Internet]. 2019;10(3):1038-48. Available from: https://www.researchgate.net/publication/336197772_Radiation_effect_on_germination_and_seedling_traits_in_rice_Oryza_sativa_L
26. Antúnez-Ocampo OM, Cruz-Izquierdo S, Sandoval-Villa M, Santacruz-Varela A, Mendoza-Onofre LE, de la Cruz-Torres E, et al. Variabilidad inducida en caracteres fisiológicos de *Physalis peruviana* L. mediante rayos gamma ⁶⁰Co aplicados a la semilla. Revista Fitotecnia Mexicana [Internet]. 2017;40(2):211-8. Available from: <https://www.re-dalyc.org/pdf/610/61051413012.pdf>
27. Rafii MY, Harun AR, Ahmad F, Jaafar NN, Ramachandran K, Hussein S. Radiosensitivity Response to Acute Gamma Irradiation in a Malaysian Rice Variety, MR284. Jurnal Sains Nuklear Malaysia [Internet]. 2020;32(2):1-7.
28. Fonseca AÁ, Suárez LC, Fernández RR, Brizuela RP, Prado WE. Indicadores fisiológicos en plántulas de *Solanum lycopersicum* L., procedentes de semillas irradiadas con rayos X. Biotecnología Vegetal [Internet]. 2012;12(3). Available from: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/viewFile/172/147>
29. Chandrashekar KR. Gamma sensitivity of forest plants of Western Ghats. Journal of Environmental Radioactivity [Internet]. 2014;132:100-7. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2014.02.006>
30. Delgado HRB, López ED. Variabilidad genética en raíz de girasol mediante gamma de ⁶⁰Co. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas [Internet]. 2021;12(3):461-72. Available from: <http://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2597>
31. Hashish KI, Taha LS, Ibrahim S. Micropropagation potentiality and pigments content of *Hibiscus rosasinensis* L. as affected by gamma radiation. International Journal of ChemTech Research [Internet]. 2015;8(9):131-6. Available from: Micropropagation potentiality and pigments content of *Hibiscus rosa -sinesis* L. as affected by gamma radiation
32. R. G, Vanniarajan C, Pillai A. Effect of Gamma Rays and Electron Beam on Various Quantitative Traits of Rice (*Oryza sativa* L.) in M 1 Generation. Advances in Life Sciences [Internet]. 2016;5:1876-82. Available from: https://www.researchgate.net/publication/314231592_Effect_of_Gamma_Rays_and_Electron_Beam_on_Various_Quantitative_Traits_of_Rice_Oryza_sativa_L_in_M_1_Generation
33. Kurtar ES, Balkaya A, Kandemir D. Determination of semi-lethal (LD50) doses for mutation breeding of Winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). Fresenius Environmental Bulletin [Internet]. 2017;26(5):3209-16. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Ahmet-Balkaya/publication/317385003_Determination_of_semi-lethal_LD50_doses_for_mutation_breeding_of_Turkish_winter_squash_Cucurbita_maxima_Duch_and_pumpkin_Cucurbita_moschata_Duch/links/5937f766aca272c72b78bc1b/Determination-of-semi-lethal-LD50-doses-for-mutation-breeding-of-Turkish-winter-squash-Cucurbita-maxima-Duch-and-pumpkin-Cucurbita-moschata-Duch.pdf

34. Sao R, Sahu PK, Sharma D, Vishwakarma G, Nair JP, Petwal VC, et al. Comparative study of radio-sensitivity and relative biological effectiveness of gamma rays, X-rays, electron beam and proton beam in short grain aromatic rice. Indian J. Genet [Internet]. 2020;80(4):384-94. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Parmeshwar-Sahu-2/publication/346937960_Comparative_study_of_radio-sensitivity_and_relative_biological_effectiveness_of_gamma_rays_X-rays_electron_beam_and_proton_beam_in_short_grain_aromatic_rice/links/5fd31ca3299bf188d40b16a4/Comparative-study-of-radio-sensitivity-and-relative-biological-effectiveness-of-gamma-rays-X-rays-electron-beam-and-proton-beam-in-short-grain-aromatic-rice.pdf