



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA**



**Comportamiento morfológico – reproductivo de *Plukenetia volubilis* L.,  
sometido a radiación gamma ( $\text{Co}_{60}$ ) y etil metanosulfonato.**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo**

**AUTOR:**

**Bach. Yeltsin Torres Torres**

**ASESOR:**

**Ing. María Emilia Ruiz Sánchez**

**Tarapoto – Perú**

**2018**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

### ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Comportamiento morfológico – reproductivo de *Plukenetia volubilis* L.,  
sometido a radiación gamma ( $Co_{60}$ ) y etil metanosulfonato.**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo**

**AUTOR:**

**Bach. Yeltsin Torres Torres**

Sustentada y aprobada el día 08 de noviembre del 2018 ante el honorable jurado:

.....  
Dr. Jaime Walter Alvarado Ramírez

**Presidente**

.....  
Ing. MSc. Javier Ormeño Luna

**Secretario**

.....  
Ing. Marvin Barrera Lozano

**Miembro**

.....  
Ing. María Emilia Ruiz Sánchez

**Asesor**

## Declaración de autenticidad

Yeltsin Torres Torres, con DNI N° 70689427, egresado de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Agronomía, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la tesis titulada: “Comportamiento morfológico – reproductivo de *Plukenetia volubilis* L., sometido a radiación gamma (Co<sub>60</sub>) y etil metanosulfonato”.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigativa.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven , sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 08 de Noviembre del 2018



.....  
Yeltsin Torres Torres

DNI: 70689427

**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres:	Torres Torres Yeltsin	
Código de alumno :	111121	Teléfono: 995451373
Correo electrónico :	Yeltsinttagro@gmail.com	DNI: 70689427

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de:	Ciencias Agrarias
Escuela Profesional de:	Agronomía

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	( )
Trabajo de suficiencia profesional	( )		

**4. Datos del Trabajo de investigación**

Título:	"Comportamiento morfológico - reproductivo de <i>Plukenetia volubilis</i> L., sometido a radiación Gamma( $^{60}\text{Co}$ ) y etil metanosulfonato"
Año de publicación:	2018

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	( )	Embargo	( )
Acceso restringido **	( )		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:


**6. Originalidad del archivo digital.**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

## 7. Otorgamiento de una licencia **CREATIVE COMMONS**

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI **“Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA”**.

  
.....  
Firma del Autor

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

15, 05, 2019



  
.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM – T.

**\* Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**\*\* Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **Dedicatoria**

A mis padres Florisa Torres Sánchez y Justiniano Torres Campos quienes con infinito amor, sacrificio, perseverancia y sabiduría me brindaron su apoyo y comprensión incondicional en todo momento, para así conseguir mis metas propuestas.

A mi hermana Fiorella, a Karolyn Vásquez y familiares, que siempre dan el cariño y las ganas de seguir adelante.

## **Agradecimiento**

A Dios, por permitir que exista; y a mis padres por sus enseñanzas, apoyo moral y económico durante toda mi vida, para así ser una persona de bien, y servir a la sociedad.

A la Universidad Nacional de San Martín – T, en especial a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, que contribuyeron a mi formación profesional y en el desarrollo de mi tesis.

Agradecer a los miembros del Laboratorio de Genética y Biología Molecular quienes siempre me brindaron su apoyo, asimismo dando las facilidades de sus instalaciones para poder realizar la presente tesis, y comprometerse siempre por el desarrollo de la región con nuevas tecnologías para la agricultura.

A mis familiares y mis amigos, quienes siempre me apoyaron en mi formación profesional y a los que me apoyaron incondicionalmente en la realización de mi tesis, con gran espíritu y calidad humana.

## Índice

Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1. Antecedentes de la investigación	3
1.2. Del cultivo de <i>P. voluilis</i> L. (sacha inchi)	6
1.3. Mejoramiento genético	15
1.4. Las mutaciones.	16
1.5. Radiación Gamma	18
1.6. Etil Metanosulfonato	19
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	21
2.1. Tipo y nivel de investigación	21
2.2. Diseño de investigación	21
2.3. Población y muestra	21
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	21
2.5. Técnicas de procedimiento y análisis de datos	22
2.6. Materiales y métodos	23
2.7. Variables evaluadas	26
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1. Variables cuantitativas	30
3.2. Variables cualitativas	49
CONCLUSIONES	54
RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	65

## Índice de figuras

<b>Figura 1:</b> Estadios de desarrollo de inflorescencia.	9
<b>Figura 2:</b> Estadios de desarrollo de flor pistilada.	10
<b>Figura 3:</b> Estadios de desarrollo de fruto.	11
<b>Figura 4:</b> Medición de altura (cm) en plantas de <i>P. volubilis</i> L.	26
<b>Figura 5:</b> Inflorescencia de <i>P. volubilis</i> L., (estadio 01).	27
<b>Figura 6:</b> Flor pistilada de <i>P. volubilis</i> L., (estadio 03).	28
<b>Figura 7:</b> Conteo de frutos de <i>P. volubilis</i> L., (estadio 2) desarrollo de frutos.	28
<b>Figura 8:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) altura (cm) de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.	31
<b>Figura 9:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) altura (cm) de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.	34
<b>Figura 10:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) días a la floración después del trasplante de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	38
<b>Figura 11:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) días a la floración después del trasplante de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG.	40
<b>Figura 12:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) número de flores pistiladas por inflorescencia de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	42
<b>Figura 13:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) número de frutos por planta de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	44
<b>Figura 14:</b> Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) número de frutos por planta de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG.	46
<b>Figura 15:</b> Número de frutos deformados de la plantas con 1.5% de EMS.	49
<b>Figura 16:</b> Deformación de frutos planta de <i>P. volubilis</i> L.	50
<b>Figura 17:</b> Reversión de flores masculinas a flores femeninas en inflorescencias de <i>P. volubilis</i> L.	51
<b>Figura 18:</b> Receptividad estigmática en flores de plantas estériles de <i>P. volubilis</i> L.	52
<b>Figura 19:</b> Croquis de distribución de la parcela.	65
<b>Figura 20:</b> Plantas mutagenizadas de <i>P. volubilis</i> L, seleccionadas en vivero.	65
<b>Figura 21:</b> Instalación de plantas mutagenizadas de <i>P. volubilis</i> L.	66

## Índice de tablas

<b>Tabla 1:</b> Estadios de desarrollo de inflorescencia.	22
<b>Tabla 2:</b> Tratamientos con Radiación Gamma.	23
<b>Tabla 3:</b> Análisis de Varianza de altura (cm) de plantas de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.	30
<b>Tabla 4:</b> Análisis de Varianza de altura (cm) de plantas de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.	33
<b>Tabla 5:</b> Análisis de Varianza número de ramas por plantas de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	36
<b>Tabla 6:</b> Análisis de Varianza número de ramas por plantas de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG.	37
<b>Tabla 7:</b> Análisis de Varianza días a la floración después del trasplante de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	38
<b>Tabla 8:</b> Análisis de Varianza días a la floración después del trasplante de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG.	39
<b>Tabla 9:</b> Análisis de Varianza número de flores pistiladas por inflorescencia de <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	41
<b>Tabla 10:</b> Análisis de Varianza número de flores pistiladas por inflorescencia de <i>P. volubilis</i> L., inducidos con RG.	43
<b>Tabla 11:</b> Análisis de Varianza número de frutos por planta de <i>P. volubilis</i> L., inducido con EMS.	44
<b>Tabla 12:</b> Análisis de Varianza número de frutos por planta de <i>P. volubilis</i> L., inducido con RG.	45
<b>Tabla 13:</b> Análisis de Varianza número de semillas por fruto (cápsula) <i>P. volubilis</i> L., inducidas con EMS.	47
<b>Tabla 14:</b> Análisis de Varianza número de semillas por fruto (cápsula) <i>P. volubilis</i> L., inducidas con RG.	48

## Resumen

Mediante el uso de agentes mutagénicos físicos (Radiación Gamma ( $Co_{60}$ )) y productos químicos (Etil Metanosulfonato), se está mejorando genéticamente gran diversidad de cultivos, con respecto a trabajos con *Plukenetia volubilis* L., “sacha inchi”, aún no se tiene trabajos de investigación relacionados, por tal motivo, es importante generar avances en el mejoramiento genético de esta especie. El presente trabajo se enfoca en conocer el comportamiento morfológico – reproductivo de plantas de *P. volubilis* L., sometido a Radiación Gamma ( $Co_{60}$ ) y Etil Metanosulfonato, instaladas en campo abierto previamente obtenidas en condiciones de casa malla de multiplicación de plantas mutagenizadas de la UNSM-LBGM. Las plantas inducidas con agentes mutagénicos fueron extraídas de la casa malla, para luego ser instaladas en una parcela de 1800 m<sup>2</sup> localizada en la ciudad universitaria de la UNSM; las plantas de los tratamientos que excedieron el 50% del fenotipo de plantas mutantes fueron seleccionadas y llevadas a campo. Las variables evaluadas fueron altura de planta, número de ramas por planta, días a la floración, número de frutos, número de semillas por fruto, forma de frutos, reversión floral y receptividad estigmática. Los resultados encontrados muestran el efecto reductor de la Radiación Gamma ( $Co_{60}$ ) y Etil Metanosulfonato en los parámetros biométricos, así mismo se encontró cinco plantas mutagénicas con efectos negativos, una con frutos deformes al 100% y dos plantas con esterilidad estigmática, también se observó dos plantas con reversión floral, lo que atribuye mayor producción de flores femeninas de *P. volubilis* L., pero no lograron ser fecundadas.

Palabras clave: Mutágeno, Radiación Gamma ( $Co_{60}$ ), Etilmetanosulfonato, *Plukenetia volubilis* L.

## Abstract

Through the use of physical mutagenic agents (Gamma Radiation ( $Co_{60}$ ) and chemical products (Ethyl Methanesulfonate), a great diversity of crops is being genetically improved, with respect to work with *Plukenetia volubilis* L., "sacha inchi", there are still no works of related research, for this reason, it is important to generate advances in the genetic improvement of this species. The following work focuses on knowing the morphological - reproductive behavior of plants of *P. volubilis* L., subjected to Gamma Radiation ( $Co_{60}$ ) and Ethyl Methanesulfonate, installed in open field previously obtained in house conditions multiplication mesh of mutagenized plants of the UNSM-LBGM. Plants induced with mutagenic agents were extracted from the mesh house, and then installed on a plot of 1800 m<sup>2</sup> located in the university city of the UNSM; the plants of the treatments that exceeded 50% of the phenotype of mutant plants were selected and taken to the field. The variables evaluated were plant height, number of branches per plant, days to flowering and number of fruits, number of seeds per fruit, shape of fruits, floral reversion and stigmatic receptivity. The results show the reducing effect of Gamma Radiation ( $Co_{60}$ ) and Ethyl Methanesulfonate in the biometric parameters, likewise five mutagenic plants with negative effects were found, one with 100% deformed fruits and two plants with stigmatic sterility, it was also observed two plants with floral reversal, which attributed higher production of female flowers of *P. volubilis* L., but failed to be fertilized.

Keywords: Mutagen, Gamma Radiation ( $Co_{60}$ ), Ethyl methanesulfonate, *Plukenetia volubilis* L.



## Introducción

*Plukenetia volubilis* L., conocida comúnmente como “sacha inchi, maní del monte, maní silvestre, maní del inca”, entre otras es una especie nativa de América, su presencia se da principalmente en Perú, Bolivia, Antillas Menores, Surinam, Venezuela, Colombia, Ecuador y Brasil, sitios que cumplen sus exigencias óptimas de crecimiento, que incluyen una altitud entre 30 y 2000 m.s.n.m.m., clima tropical o sub-tropical, con temperaturas de 10 a 26°C y una humedad relativa del 78%, Arfini y Antonioli (2013). En el Perú en los últimos años se ha incrementado el área sembrada de esta especie, sobre todo en la región San Martín, caracterizada por ser una de las principales productoras a nivel nacional, siendo las provincias de Lamas, El Dorado, Picota y Bellavista las de mayor producción (Drasam, 2016). *P. volubilis* L., es una especie que se caracteriza por ser perenne, posee flores hermafroditas y frutos en forma de estrellas por lo general presenta 4 semillas (Cachique, 2006; Manco, 2005; Arevalo, 2005). Este producto a nivel mundial es consumido por sus elevadas fuentes de aceites esenciales (Omega 3, 6 y 9) que son extraídos de sus semillas (Hamaker *et al.*, 1992).

A la fecha todas las áreas sembradas con este cultivo no presentan un manejo agronómico validado, principalmente porque no existen variedades o líneas con características agronómicas específicas. Toda las semillas utilizadas para la instalación de áreas provienen de poblaciones naturales (accesiones o ecotipos) que presentan alta variabilidad genética (Rodríguez *et al.*, 2010; Corazón, 2009; Zapata, 2003), y susceptibilidad al nemátodo del nódulo (*Meloidogyne incognita*) considerado como el principal patógeno de esta especie. Manco (2006) reporta que plantaciones mayores 2-3 años empiezan a desaparecer como consecuencia del nemátodo del nódulo. Castro (2013), en un estudio realizado con 10 accesiones del Banco Nacional de Germoplasma del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), reporto que todas las accesiones evaluadas presentan susceptibilidad a este patógeno.

A nivel mundial existen infinidad de variedades de plantas con características agronómicas favorables generadas a través de la inducción con agentes mutagénicos (Mendoza, 2014). En el Perú existen trabajos utilizando diferentes dosis de radiación gamma, en quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el cual se consiguió plantas con mayor ramificación plantas pequeñas con hojas deformes y de ciclos cortos. (Gómez y Falconi,

2010). Actualmente nuestro grupo de investigación determinó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ), testando diferentes dosis (0-control, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800 y 900 Gy) de radiación gamma ( $Co_{60}$ ) y concentraciones (0 - control, 1, 1.5, 2.0, 2.5 y 3%) de etil metanosulfonato en semillas de “sacha inchi” Mendoza (2017). Las plántulas de “sacha inchi” generadas con cada dosis fueron evaluadas y seleccionadas para luego utilizarlas en el presente estudio. En este sentido, la investigación se enfoca en evaluar el comportamiento morfológico – reproductivo de *Plukenetia volubilis* L., sometido a radiación gamma ( $Co_{60}$ ) y etil metanosulfonato, por lo tanto, se requiere obtener plantas con características como: de mayor producción y resistente al ataque de plagas. De este modo se generó información que sirva de base para futuros trabajos de mejoramiento genético en *Plukenetia volubilis* L.

# CAPÍTULO I

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Antecedentes de la investigación

En numerosos trabajos a través de inducción de radiación gamma (RG) y etil metanosulfonato (EMS) realizados en diferentes cultivos se ha logrado obtener características agronómicas favorables es el caso de la variabilidad genética generada en *Jatropha curcas*, fue inducida por diferentes dosis (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 kR) de RG. (Dhillon *et al.*, 2014). La RG indujo la precocidad en el descenso y las plantas produjeron flores antes que la del control, lo que requirió una duración más prolongada de 327 días para la floración. Los parámetros reproductivos y de rendimiento, mejoró en días pasados a la primera floración, la población de floración, el rendimiento de semilla por planta se registró en dosis de 25 kR y la germinación de la semilla, de 5 y 10 Kr. (Dhillon *et al.*, 2014). La caracterización molecular de mutantes inducidos (generación M1) con 47 cebadores de ADN polimórfico amplificado y amplificado (RAPD) mostró un polimorfismo del 65.27%. La variabilidad creada por los RG varió del 9 al 28%. Se encontró que el mutante de 50 kR era el más diverso desde el control seguido por el mutante de 25 kR. Por lo tanto, este enfoque integrado puede usarse para llevar a cabo la reproducción asistida por mutación y la posterior selección de mutantes deseados utilizando marcadores moleculares en *J. curcas*. (Dhillon *et al.*, 2014).

Caso del centeno sometieron semillas de *Secale montanum*, a diferentes dosis de RG (0, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 20, 25 y 30 krad) encontrando variaciones en la M1 tales como reducción del porcentaje de germinación y número de granos por espiga a dosis crecientes de radiación. (Akgün y Tosun, 2004). Así mismo Soraluz (2015), empleó inducción de RG en el cultivo de centeno (*Secale montanum*) a dosis de 100, 150, 250 y 300 Gy encontrando variaciones de emergencia, altura, número de hojas, precocidad a la floración, cantidad de espigas y sobrevivencia al aumentar las dosis de radiación.

En otros trabajos como en soya también arrojan valores similares con la utilización de la RG, Fé (2000) realizado en la Habana, irradió semillas de soya (*Glycine max* L.) a dosis de 0, 50, 150, 200, 240, 280, 320 – 480 Gy, demostró que los tratamientos a dosis bajas de 50 a 240 Gy acelera la germinación y emergencia de semillas en cambio a partir

de dosis de 280 a 480 Gy observó un efecto contrario disminuyendo la emergencia, altura de planta y sobrevivencia de las plantas.

Cuando la RG se utiliza en semillas, las plantas son quiméricas a causa de los embriones irradiados están formados por varias células. Entonces solamente una parte de la planta son heterocigotos para una mutación, esto quiere decir que cada una de las mazorcas, espigas, panícula de la misma planta en muchos casos genéticamente es independiente de otra. (Ichikawa, 1973) citado por Máximo (2014).

Según Reyes (2004), indica haber encontrado que a dosis de 150 Gy en el cultivo de trigo (*Triticum turgidum* ssp.) durum var. Taray, el 45% de las plantas mutantes presentaron precocidad frente al testigo, y a dosis de 250 Gy el porcentaje fue mucho mayor alcanzando el 70.29%.

Argumedo (2013), estudió la inducción de mutaciones en trigo (*Triticum turgidum* spp.), Selección Arequipa a dos dosis de RG (200 y 300 Gy) a nivel de laboratorio, en la generación M1, observó en general un retardo en el proceso de germinación por efecto del tratamiento mutagénico, con mayor evidencia en la dosis de 300 Gy. El promedio de supervivencia fue de 93.67, 73.33 y 51.33 % para el testigo, 200 y 300 Gy, respectivamente; así mismo, la altura de plántula fue de 21.67, 13.67 y 12.67 cm y la longitud de raíz fue de 11.00, 8.33 y 7.67 cm para el testigo, 200 y 300 Gy respectivamente; notándose en general una reducción en los valores de los caracteres evaluados a medida que la dosis fue incrementándose. Similar efecto se apreció en condiciones de campo, así también se encontró valores de precocidad de 12 días frente al testigo con las dosis de 200 y 300 Gy.

De la misma manera Aldaba (2014), indica que encontró mutaciones en la inflorescencia o espiga muy variadas en el cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.), obtenidas con una dosis de 250 Gray.

Según Gomez, Eguiluz, y Falconi (2010), observaron en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Pasankalla, tratada con dosis de 150, 250 y 350 Gy de RG mutaciones en las dos dosis (150 Gy y 250 Gy) fueron en la ramificación, longitud de pedicelos, reducción de altura de planta y ciclo de vida, el color del tallo y hojas de plantas, forma de hoja y mejor tipo de planta.

Albokari *et al.*, (2012), realizó trabajos en trigo (*Triticum turgidum* ssp), irradiando semillas a 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 Gy dosis de RG de un irradiador gamma Cobalto 60, registró la altura de la plántula frente a diferentes dosis de RG dando como resultado que a dosis más altas la altura de la planta tienden a reducirse.

Álvarez *et al.*, (2013), realizaron un estudio aplicando agentes mutagénicos físicos en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) en el Centro de Investigaciones, Servicios y Tecnologías Ambientales de Granma, lograron encontrar plantas con rendimiento significativo ( $p \leq 0.001$ ) en todos los tratamientos aplicados, en relación con el control; el mejor comportamiento se logró con las dosis de 5 y 20 Gy con incrementos de 107% y 87% respectivamente con respecto al control. Así también González *et al.*, (1997), añade que la radiación influye en la disminución de la producción de granos por panoja y el aumento de los daños fisiológicos. De la misma forma lo corrobora Montoya (2007), expresa que los caracteres modificados mediante la inducción de mutaciones en las plantas generalmente son morfológicos, y que también incluye una reducción de altura.

Trabajos de inducción de mutaciones y selección de líneas tolerantes a imidazolinonas a través de agentes mutagénico etil metanosulfonato, realizados en el cultivo de quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd) en la universidad austral de Chile, alcanzaron encontrar tolerancia al herbicida del grupo de las imidazolinonas (Imazapic + imazapyr), las semillas fueron inducidas con EMS a dosis (1%, 2%, 3%), la que obtuvo resistencia fue la dosis (1%, 2%); Finalmente se determinó que la inducción de mutaciones en semillas de quínoa con EMS permite obtener genotipos con mayor tolerancia a herbicidas del grupo de las imidazolinonas (imazapic + imazapyr). (Tropa, 2010).

Por otro lado León (2016), observó retardo y disminución en la floración de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), derivadas de semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS, a los 35 días de cultivo, cuando la mayoría de las plantas provenientes de semillas sin tratar habían florecido, las plantas originadas de semillas tratadas con 20 y 40 mM de EMS no presentaban flores aún, mientras que, las plantas procedentes de semillas expuestas a 30, 50 y 60 mM de EMS, apenas llegaron al inicio de la floración.

Así mismo Porch (2009), en investigaciones anteriores también trabajo con EMS en plantas de frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en la variedad BAT-93 con dosis de 0,20, 30, 40, 50, y 60 Mm encontrando resultados semejantes que a mayores dosis de EMS existe una reducción en la germinación, emergencia y altura de planta.

Arisha *et al.*, (2014), realizó investigaciones sometiendo semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) a 11 concentraciones de EMS (0, 0.25, 0.50, 0.75 hasta 2.50%) para determinar la sensibilidad de la primera generación (M1) a mutágenos, el espectro de mutaciones y variabilidad inducida para varios rasgos cuantitativos, incluyendo germinación, altura de planta porcentual, ocurrencia de lesiones, relación de supervivencia, peso de las primeras tres frutas y número de semillas por primera fruta, se observaron en la generación M1 resultados indicando que todos los parámetros de la prueba disminuyeron al aumentar la concentración de EMS, a excepción de la lesión de la plántula.

## **1.2. Del cultivo de *P. voluilis* L., “sacha inchi”**

### **1.2.1. Origen y distribución**

Es una planta nativa de la Amazonia peruana descrita por primera vez, en el año 1753, por el naturalista Linneo de ahí su nombre científico, *Plukenetia volubilis* L., clasificándolo dentro de la familia Euphorbiaceae. (Aceituno, 2005).

El género *Plukenetia* comprende 17 especies de distribución pantropical, 12 en América, 03 en África, 01 en Madagascar y 01 en Asia. En el Perú el cultivo posiblemente fue cultivado por los incas desde 3000 a 5000 años, al haberse encontrado en la costa peruana, en tumbas incaicas y huacos fitomorfos que representan al fruto de la planta trepadora que fue llevada del antisuyo (selva) durante el imperio inca. (Guerrero, 2006).

Especie propia de la Amazonia peruana que se encuentra distribuida en las Regiones de Loreto, San Martín, Amazonas, Junín, Ucayali, Madre de Dios y el Cuzco, registrándose especies como: *Plukenetia volubilis* L., *P. lorentensis* Ulei, *P. brachybotrya* M. Arg. (Gallusser, 2005).

### 1.2.2. Taxonomía

Según Roskov (2017), la clasificación botánica según Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, es la siguiente:

Reino	: Plantae
Sub reino	: Viridaeplantae
División	: Tracheophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Malpighiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>Volubilis</i> Linneo.
Nombre científico	: <i>Plukenetia volubilis</i> L.
Nombre común	: Sacha inchi, Maní del monte

### 1.2.3. Morfología del cultivo

Es una planta trepadora (liana), semileñosa que alcanza la altura del tutor que la soporta (puede cubrir árboles de más de 40 m); es recomendable que los tutores no sobrepasen los 2 m de altura. Algunos agricultores van eliminando las yemas terminales de la planta sin usar tutores, para favorecer la formación de un bosquecillo en cada planta. (IIAP, 2009).

- **Raíz.** - Las raíces de *P. volubilis* L., son superficiales de varios metros de largo. (Manco, 2005).
- **Tallo.** - Es una planta trepadora, voluble, semileñosa y perenne, de altura indeterminada, tiene una forma cilíndrica. (Manco, 2005).
- **Hojas.** - Posee hojas alternas, de color verde oscuro, oval – elípticas, aseruladas y pinnitinervias, de 09 – 16 cm de largo y 06 – 10 cm de ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semi arriñonada. (Manco, 2005). Así mismo Arévalo (1995), menciona que el borde de las hojas es crenado con base caudada.
- **Flores.** - Sus flores son hermafrodita, presentan una polinización cruzada, lo cual implica que se trata de una especie alógama. El conocimiento del tipo de reproducción es de suma importancia para futuros trabajos de mejoramiento genético de la especie. En *P. volubilis* L., se observan 2 tipos de flores, las flores

masculinas en las cuales son pequeñas, blanquecinas, dispuestas en racimos y las femeninas que se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente de una a dos flores. (Cachique, 2006).

- **Fruto.** - El fruto es una cápsula, de 3.5 a 4.5 cm. de diámetro, con 4 lóbulos aristados (tetra lobados) dentro de los cuales se encuentran 4 semillas (Manco 2005). Excepcionalmente, algunos ecotipos presentan cápsulas con 5 a 7 lóbulos. (INIA, 2006).
- **Semilla.** - Son de color marrón con manchas irregulares más oscuras, de formas ovaladas, de 1.5 a 2 cm de diámetro; ligeramente abultadas en el centro y aplastadas hacia los bordes. Al abrir las semillas se encuentra los cotiledones a manera de almendras cubiertas de una película blanquecina. (Arévalo, 2005).

#### 1.2.4. Fisiología

Según Ralhan (2007), menciona que el cultivo de *P. volubilis* L., desde el inicio de la siembra de las semillas hasta la obtención de frutos maduros tiene un tiempo de 220 a 230 días y su ciclo fenológico se divide en dos fases:

- a) **Fase vegetativa.**- Esta fase comprende la germinación y se extiende hasta la pre floración incluyendo la formación de raíz, tallos, hojas y dura aproximadamente 90 días.
- b) **Fase reproductiva.**- Comprende desde el inicio de la formación de la estructura floral, hasta el desarrollo y obtención de frutos maduros, tiene una duración de 120 días aproximadamente.

En cambio, Manco (2005), explica el período vegetativo de la siguiente manera:

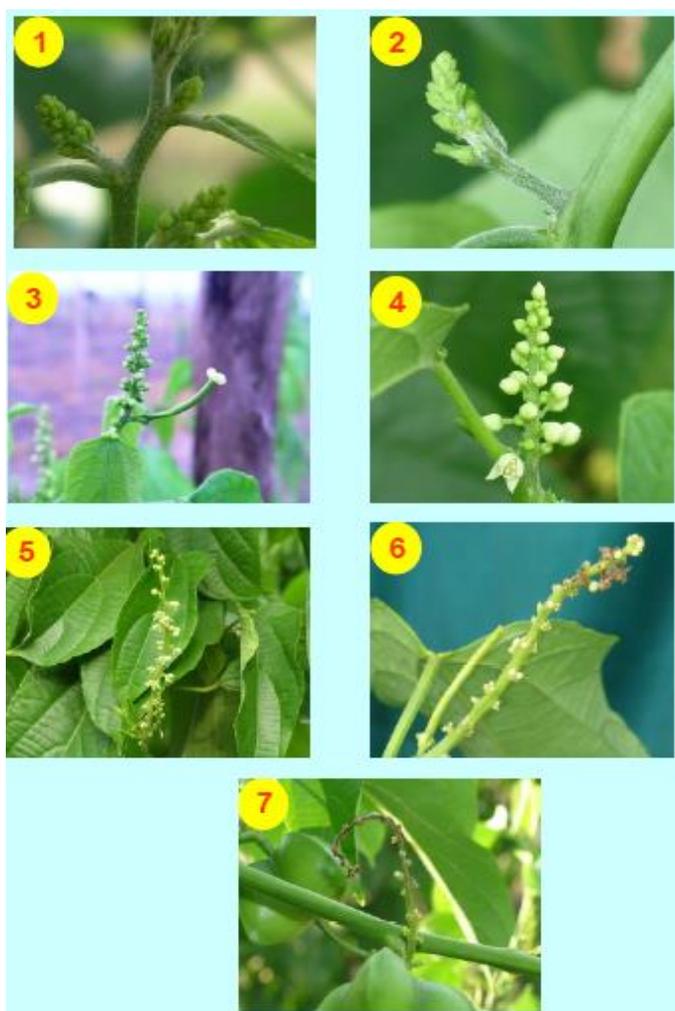
- **En almácigo:**
  - Días a germinación: 11 a 14 dda.
  - Días a emergencia de hojas verdaderas:
  - 1er, par: 16 y 20 d.d.a; 2do, par: 28 y 42 dda; y 3er, par: Entre 45 y 59 d.da.
- **Después del trasplante:**
  - Inicio de emisión de guía: Entre 20 y 41 d.d.t.
  - Inicio de floración: Entre 86 y 139 d.d.t.
  - Inicio de fructificación: Entre 119 y 182 d.d.t.
  - Inicio de cosecha: Entre 202 a 249 d.d.t.

### 1.2.5. Escalas de desarrollo de morfología floral

El inicio de la floración del cultivo de *P. volubilis* L., se inicia entre los 88 y 138 días después del trasplante. (Cachique, 2006).

#### a) Desarrollo de inflorescencia

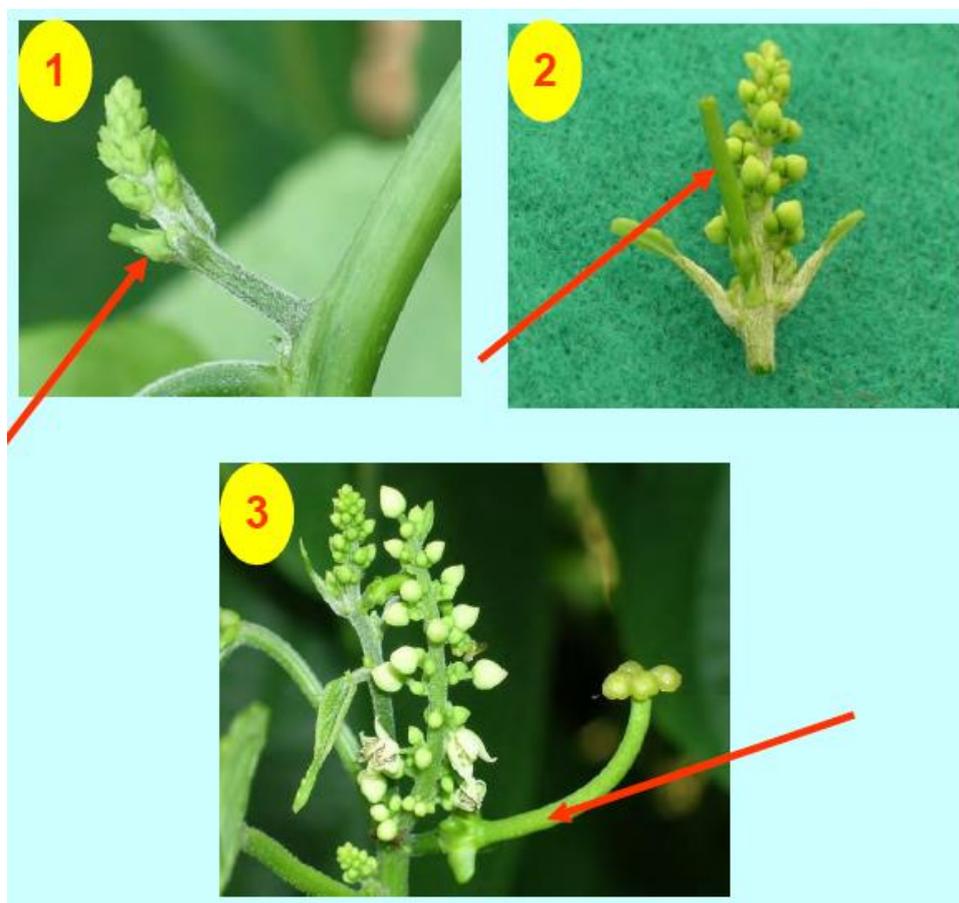
El desarrollo de la inflorescencia comprende un periodo o lapso de tiempo que abarca desde que se hace visible a simple vista el primordio floral hasta el marchitamiento de la última flor (estaminada).



*Figura 1.* Estadios de desarrollo de inflorescencia; 1 presencia de primordio floral, 2 presencia de botones tiernos y emergencia de la flor pistilada, 3 presencia de botones maduros y la flor pistilada con el estigma abierto, 4 apertura de las primeras flores estaminadas (1-3), 5 floración plena (> de 3 flores estaminadas abiertas), 6 presencia de ultima flores estaminadas, 7 final de la floración el raquis tiende a necrotizar y posterior caída. Fuente: Cachique (2006).

**b) Desarrollo de botón y flor pistilada**

Para la caracterización de esta estructura reproductiva, de igual manera se procedió con la definición de 3 estadios para el botón floral y 3 estadios para la flor pistilada. (Cachique, 2006).



*Figura 2.* Estadios de desarrollo de flor pistilada, 1 botón menor igual a 0.1 mm de longitud, 2 botón aún envuelto por los acúmenes de los sépalos, pedicelo distinguible, 3 ruptura a lo largo de los sépalos. Fuente: Cachique (2006).

### c) Escalas de desarrollo de fruto

Para esta característica se definió el periodo de desarrollo del fruto (PDFT) el cual consta de cuatro estadios, que a continuación se detalla. (Cachique, 2006).

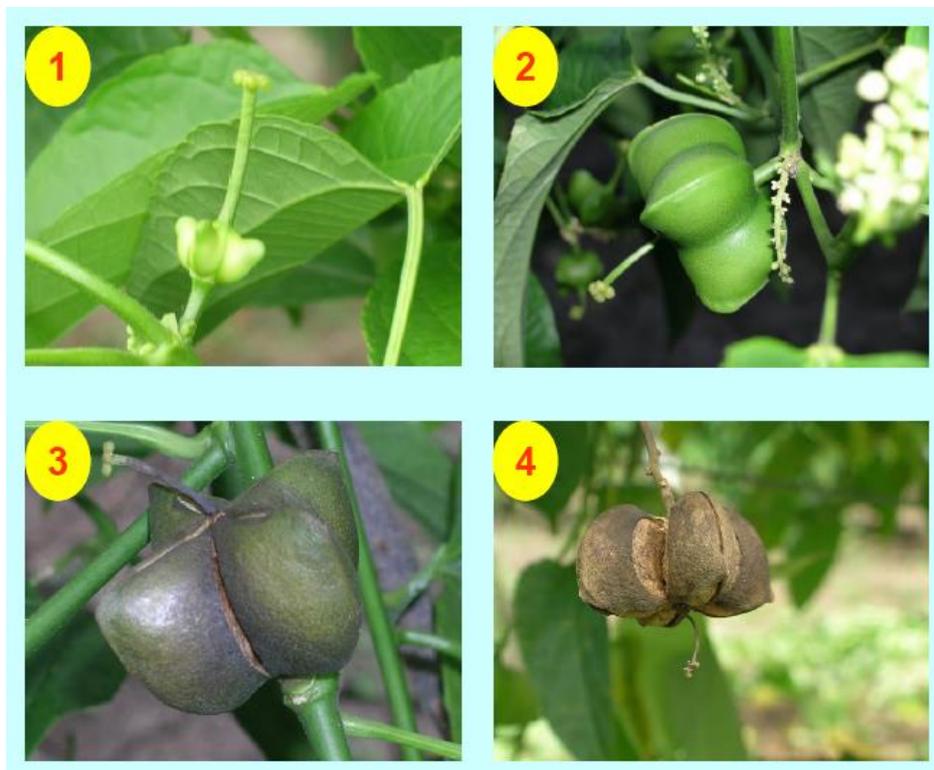


Figura 3. Estadios de desarrollo de fruto, 1 Ovario fecundado (posterior a la apertura del estigma), 2 Longitud del ovario fecundado (fruto) mayor que la longitud del pedúnculo. , 3 Fruto maduro, adoptando una coloración grisácea, 4 Fruto seco, de coloración marrón oscuro, observándose dehiscencia a lo largo de las soldaduras de las valvas del endocarpio Fuente: Cachique (2006).

#### 1.2.6. Ecología del cultivo

- **Temperatura.** - Crece y tiene buen comportamiento a diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonia peruana (Min. 10°C y Máx. 36°C.). Las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de flores y frutos pequeños, principalmente los recién formados. (Arévalo, 1995).
- **Altitud.** - Esta planta crece en suelos cuya altitud varían de 80 m.s.n.m.m., en Selva baja a 1700 m.s.n.m.m. en selva alta. (IIAP, 2009).
- **Luz.** - Es otro factor ecológico importante en esta especie; mientras más luz reciba la planta, mayor es la población de brotes, flores y frutos; si la intensidad de luz es

baja, la planta va a requerir mayor número de días para completar sus fases de crecimiento y desarrollo. Por lo tanto si la sombra se prolonga y la luz disminuye, la floración va a disminuir y por lo tanto la producción va a ser menor. (Tasso *et al.*, 2013).

- **Agua.** - La planta que requiere de disponibilidad permanente de agua, para tener un crecimiento sostenido; siendo mejor si las lluvias se distribuyen en forma uniforme durante los 12 meses (850 a 1000 mm/año). El riego es indispensable en los meses secos. Periodos relativamente prolongados de sequía o de baja de temperatura, causan un crecimiento lento y dificultoso. El exceso de agua ocasiona daño a las plantas e incrementa los daños por enfermedades. (Tasso *et al.*, 2013).
- **Suelo.** - Crece mejor en los suelos francos o aluviales planos, con buen drenaje, con pH entre 5 y 6. No requiere labranza mecanizada del suelo, solamente un mínimo de labores manuales en la siembra y deshierbe; lo cual favorece cuando los suelos presentan problemas de erosión. (IIAP, 2009).
- **Drenaje.** - Necesita terrenos con drenaje adecuado, que eliminen el exceso de agua tanto a nivel superficial como profundo. Para un buen drenaje se debe considerar la textura del suelo y las pendientes del terreno que son importante para el desarrollo del cultivo. (Manco, 2005).

### 1.2.7. Importancia

En las áreas rurales de la región San Martín los pobladores utilizan la almendra de *P. volubilis* L., en su alimentación por su alto contenido en ácidos grasos insaturados como el ácido (linolénico y linoléico), es de relevante importancia en la alimentación y en la salud, ya que puede controlar los niveles de grasa en la sangre; estos ácidos Omega-3 y Omega-6 forman parte de las membranas celulares e influyen en su permeabilidad, reconociéndoseles efectos benéficos sobre enfermedades cardiovasculares como la hipertensión y la isquemia. Además contiene proteínas, aminoácidos, antioxidantes y un menor porcentaje de grasas saturadas. (Brack, 1999).

Hazen y Duclos (1980), encontraron que la almendra de *P. volubilis* L., contiene porcentajes de grasa y proteína ligeramente superiores a los cultivos de Soya, Maní, Girasol y Algodón. Así mismo Hamaker (1992) menciona que *P. volubilis* L., cuyas

semillas presentan altos contenidos de proteínas, ácidos grasos (esenciales: omegas 3, 6; omega 9) y vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) en cantidades significativamente mayores que otras semillas de oleaginosas como el maní, palma, soya, maíz, colza y girasol.

#### 1.2.8. Producción y rendimiento

La producción en la Región San Martín tiene un promedio de 750 hectáreas cultivadas de *P. volubilis* L., también se detalla que estos cultivos se encuentran en las provincias de Lamas, El Dorado, Picota y Bellavista, cuyo clima y geografía son apropiados para este cultivo. Además de conocer que en la región San Martín son aproximadamente 1 330 los agricultores que se dedican a cultivar “Sacha Inchi”, cuyo rendimiento para el 1 año: 1 000 Kg/ha<sup>-1</sup>; 2 año: 4 000 Kg/ ha<sup>-1</sup>; 3 año: 5 000 Kg de cápsula/ ha<sup>-1</sup> y el porcentaje de semilla está entre 54% a 50% y el porcentaje de cáscara entre 46% al 50%, para efectos prácticos se considera 50% de cáscara y 50% de semilla. (DRASAM, 2016).

#### 1.2.9. Morfología de la flor

Según Sevilla y Holle (2004), indican que el primer paso para definir la forma de reproducción es el análisis morfológico y esta comprende conocer su estructura floral (completa o incompleta).

El cultivo de *P. volubiles* L., al ser una planta hermafrodita y alógama, por poseer en su mismo pie floral los dos sexos, hace posible obtener poblaciones heterocigotos y mucho más, cuando son plantas que presentan el fenómeno denominado dicogamia de la clase protoginia, es decir, los pistilos maduran primero y son receptivos cuando los estambres aun no liberan polen (la antesis femenina y masculina no se superponen). (Cachique, 2006).

*P. volubilis* L., cuyas semillas contienen un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, produce aproximadamente 60 flores masculinas, pero solo 1-2 flores femeninas por inflorescencia. Incrementar el número de flores femeninas es crítico para el rendimiento de *P. volubilis* L. Sin embargo se realizó un estudio, para determinar el efecto del regulador del crecimiento vegetal 6-benciladenina (BA) en la determinación del sexo floral en *P. volubilis* L. La aplicación exógena de BA

convirtió las flores masculinas en la mayoría de las inflorescencias en flores femeninas, y aproximadamente el 8-20% de las flores femeninas inducidas se desarrollaron aún más en frutos. El tratamiento con diversas concentraciones de BA resultó en 3 - 41 flores femeninas por inflorescencia, alcanzando el promedio más alto de 23.9 a 160 mg/ l de tratamiento con BA. Hubo 3-22 inflorescencias con flores femeninas inducidas por rama en los árboles tratados con diversas concentraciones de BA, y el promedio más alto de 13.8 se observó con 20 mg / l de tratamiento con BA. El número promedio de frutos por fructescencia fue 3.3 en los árboles tratados con la concentración óptima de BA (20 mg/L), en comparación con 1.3 por las infrutescencias de los árboles de control. Los resultados de este estudio muestran que BA es un regulador del crecimiento de las plantas con el potencial de inducir la feminización floral y promover la fructificación de *P. volubilis* L. (Qiantang Fua, 2014).

#### **1.2.10. Receptividad del estigma**

Kearns y Inouye (1993), sostiene que para determinar el momento de mayor receptividad del estigma en flores de cualquier especie, será necesario introducir el lóbulo del estigma en un tubo capilar con agua oxigenada (peróxido de hidrógeno), en cantidades de 10 a 50 volúmenes durante la antesis.

En el caso del cultivo de *P. volubiles* L., el estigma de las flores pistiladas permanece receptivo, luego de ocurrido la antesis. La reacción positiva que se observa, con el burbujeo del estigma por la presencia del peróxido de hidrógeno, resulta más intenso cuando se hallan luego de 96 horas después de la emergencia del estigma, encontrándose en ese momento en condiciones óptimas para recibir el polen. (Cachique, 2006).

#### **1.2.11. Problemas fitosanitarios de “Sacha Inchi”**

Es una planta altamente susceptible al ataque del nematodo del nudo de la raíz *Meloidogyne* spp., principal problema fitosanitario que ocasiona alta mortandad en el segundo año de producción, así mismo también se han reportan daños considerables por el ataque de *Fusarium* spp., en estado de plántula. (Manco, 2006).

### 1.3. Mejoramiento genético

Hay varios usos de las técnicas nucleares en la agricultura. En el mejoramiento genético de las plantas, la irradiación de las semillas puede causar variabilidad genética que permita a los fitomejoradores seleccionar nuevos genotipos con características mejoradas como precocidad, tolerancia a la salinidad, rendimiento y calidad de los granos. (Ashraf, *et al.*, 2003).

La mutagénesis proporciona una potente técnica para mejorar el fitomejoramiento y ayudar a los análisis funcionales y genómicos de las plantas de cultivo. Esta técnica se introdujo por primera vez utilizando radiaciones de rayos X y seguido por la radiación de neutrones y rayos gamma rápida. (Sikora *et al.*, 2011).

El mejoramiento convencional requiere de siete a diez años de investigación para producir una nueva variedad. El uso de radiación permite la inducción de millones de variaciones genéticas en las que los mejoradores pueden encontrar la característica deseada y realizar cruces. De esta forma puede reducirse a la mitad el tiempo de generación de una nueva variedad. (Lagoda, 2012); citado por Soruluz (2015).

Mediante la inducción de mutaciones con radiación gamma o agentes químicos se han obtenido numerosas variedades y anomalías en diversas especies; por ejemplo, trabajos realizados con RG y EMS en el cultivo de *P. volubilis* L. se logró encontrar más del 50% de plantas mutantes a dosis (500Gy, 550Gy, 600Gy) y (1% EMS, 1.5% EMS, 2% EMS), se llegó a la conclusión que la RG causa mayor reducción de altura, en cambio el EMS produce plantas con anomalías morfológicas. (Mendoza, 2017). En otros trabajos tratamientos con EMS en anteras de arroz (*Oryza sativa.*), produjeron hasta 20.7% de mutantes. (Lee y Lee, 2001). En (*Vicia faba.*), se comparó la eficiencia entre agentes mutagénicos físicos y químicos, encontrándose que el EMS (agente químico) generó una mayor tasa de mutación comparada con la RG (agente físico), debido a los mayores efectos en la generación tratadas. (Kumari, 1996).

La Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), ha recogido en un banco de datos, junto con la organización de Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), informaciones sobre más de 3 000 mutaciones en diferentes especies, por ejemplo en Kenia, a través de esta técnica se ha desarrollado una variante de trigo resistente a la sequía, y en Vietnam los expertos han conseguido modificar de

esta manera varias especies de arroz, para su adaptación a altas tasas de salinidad en el delta del Mekong. (Novak y Brunner, 1992).

Donine *et al.* (1984), afirman que las mutaciones dadas a conocer e incorporadas en programas de mejoramiento genético consisten, principalmente, en cambios enfocados en la arquitectura de la planta; tiempo de floración; forma y color de la flor; forma, color y tamaño del fruto y resistencia a patógenos e insectos. En la actualidad, el mejoramiento genético de plantas mediante inducción de mutaciones utiliza básicamente mutágenos químicos EMS, MNH, etc. y los físicos rayos x, RG, etc. (Gutierrez *et al.*, 2003).

#### **1.4. Las mutaciones**

La inducción de mutaciones ha sido usada en el mejoramiento de cultivos mayores como trigo, arroz, cebada, algodón, maní, frijol, los cuales son propagados a través de semilla. La estrategia primaria en el mejoramiento a base de mutaciones ha sido el mejorar las variedades de cultivos adaptadas a la región alterando uno o más caracteres. Estos incluyen tamaño de planta, madurez, resistencia a enfermedades, entre otros. (Maluszynski, 2001).

Para Poehlman y Allen (2005), las mutaciones son aquellos cambios repentinos en el material hereditario de una célula esto hace posible generar una serie de anomalías a lo largo de la cadena del ADN presentando el individuo características fenotípicas y genotípicas.

##### **a). Tipos de mutaciones**

Según Pierce (2002), existen tres tipos de mutaciones en la naturaleza, según las células afectadas, la cantidad del material genético afectado y según su origen:

- **Según las células afectadas**

Tenemos a las células somáticas, surgen en los tejidos somáticos por lo que se transmitirán a otras células a través del proceso de mitosis y se obtendrán células genéticamente idénticas (clones), se caracterizan por no ser heredables. Caso contrario suceden con las células germinales, surgen en las células sexuales (células encargadas de producir gametos), este tipo de mutaciones se pueden heredar a futuras generaciones. A diferencia de las mutaciones somáticas, las mutaciones de células germinales a menudo no afectan a los progenitores. Por el

contrario, afectan a la descendencia de la planta y los cambios o mutaciones son heredables a partir de entonces. (Pierce, 2002).

- **Según la cantidad del material genético afectado**

Tenemos el efecto en los cromosomas puede ser en la pérdida de una gran parte del cromosoma, o caso contrario duplicación o copiado más de una vez, pero también se da el caso de la inversión o traslocación de los cromosomas. (Pierce, 2002).

Existe también el efecto génico se da cuando ocurre la sustitución de bases. Por lo general, sólo una base está involucrada, aunque a veces, tanto la base y su complemento cambian. Este tipo de mutación se divide a su vez en dos categorías: Transición, cuando una base de purina es sustituida por otra purina o cuando una pirimidina es sustituida por otra pirimidina y Transversión, cuando una purina sustituye una pirimidina o viceversa. (Pierce, 2002).

- **Según su origen**

Se encuentran Mutaciones naturales o espontáneas y las inducidas a través de agentes mutagénicos, las espontaneas se caracteriza porque ocurre sin ningún tipo de causa externa. Es un hecho natural, normal. Debido a que la mayor parte de la cadena de ADN no codifica información relevante, la mutación espontánea es relativamente desapercibida. La mayoría de las mutaciones espontáneas se producen como consecuencia de errores cometidos durante la replicación. Mientras que las mutaciones inducidas son dada por la exposición a algún agente exterior estas son producidas por productos químicos o por radiación. (Pierce, 2002).

Las mutaciones inducidas en especies vegetales son procedimientos utilizados desde hace más de ochenta años, que emplea la radiación para reorganizar la composición genética sin modificar el genoma de las plantas que permitan aumentar y mejorar su rendimiento. (Novak y Brunner, 1992).

Estas mutaciones génicas son alteraciones permanentes en el material genético es decir un proceso por el cual los genes pasan de una forma alélica a otra. Se pueden clasificar según su origen y el tejido que afectan. Aquellas clasificadas según su origen son las espontáneas (errores en la replicación o lesiones) y las inducidas con agentes mutagénicos físicos o químicos. (Micke, 1999 y Gutierrez *et al.*, 2003).

Jabeen y Mirza (2004), realizaron estudios en pimiento (*Capsicum annuum*) utilizaron tres concentraciones de EMS (0.01, 0.1 y 0.5) con dos tiempos de exposición de las semillas (3h y 6h), teniendo un total de 7 tratamientos ; previamente las semillas fueron remojadas durante 12 horas , en esta investigación los parámetros evaluados fueron emergencia, área foliar, altura de planta, días a la floración, número de ramas, días la fructificación , número de frutos, forma de frutos, forma de hojas y contenido de clorofila. Observando en cada tratamiento mutaciones distintas, es decir no se encontró un patrón de cierta cantidad de concentración para una mutación definida, afirmando que las mutaciones son al azar causando errores en la replicación o lesiones en los genes, esto a causa de los agentes mutagénicos.

### **1.5. Radiación Gamma (RG)**

Los rayos gamma ( $Co_{60}$ ) pertenecen a la radiación ionizante y son la forma más energética de dicha radiación electromagnética, teniendo el nivel de energía de alrededor de 10 kilo de electrones voltios (keV) a varios cientos de keV. Por lo tanto, son más penetrantes que otros tipos de radiación como los rayos alfa y beta. (Kovacs y Keresztes, 2002).

La radiación daña el ADN de dos formas. En primer lugar, la radiación puede romper las hebras de la doble hélice y/o producir la anulación de los lazos entre los azúcares y fosfatos. Si sólo una hebra se rompe, el daño es fácilmente reparable pero, cuando los dos filamentos están rotos, una gran parte del cromosoma se puede perder; y es la causa de algunos defectos. En segundo lugar, la radiación causa la mutación a través de la formación de dímeros (enlaces no deseados entre dos bases apiladas una encima de la otra). Los dímeros de timina pueden ser reparados, pero si el daño es grande, la célula muere Poehlman y Allen (2005). La inhibición de la división celular es la reacción inmediata a la irradiación, que aparece en seguida, aunque su grado y duración varían con la dosis. Si bien la inhibición de la mitosis puede resultar pasajera, la lesión radiológica que la misma produce a nivel génico y cromosómico puede ser letal para las células en división, que en conjunto son muy sensibles a la radiación. (Viccini y Carvalho, 2001).

Los efectos causados por la RG se tiene que a las semillas tratadas suelen perder poder germinativo, en un grado que depende de la reacción de la especie y de la variedad de que se trate y de la intensidad de la radiación. Las plantas que

produzcan las semillas tratadas pueden variar de muy débiles hasta normales es en su apariencia. (Poehlman, 1992).

Para Babaei *et al.*, (2010), los RG son mutágenos físicos que han demostrado ser útiles para la modificación de nuevas variantes de rasgos que pueden dar lugar a la mejora de los cultivos y se puede utilizar como una herramienta complementaria en fitomejoramiento.

Para Watkin (1965), las radiaciones pueden afectar a las células bajo formas muy diversas: mediante inhibición de la división celular y de la síntesis del ácido nucleico; por rotura de los cromosomas y cromátidas que son responsables de reordenaciones estructurales que afectan a los cromosomas y en anomalías durante la mitosis y meiosis; y en lo que se admite como intervención principal, al ser responsables de las verdaderas mutaciones génicas.

#### **1.6. Etil Metanosulfonato (EMS)**

El EMS es un agente alquilante que puede transferir radicales etilo a la Guanina, causando que se produzca un apareamiento erróneo con una de las cinco bases nitrogenadas constituyentes de los ácidos nucleicos (Timina en lugar de citosina durante la duplicación del ADN). (Neufer y Ficsor, 1963).

Estos productos químicos inducen principalmente mutaciones puntuales, y por lo tanto son ideales para producir mutaciones erróneas y sin sentido, lo que proporcionaría una serie de mutaciones de cambio de función es por ello que el EMS produce un gran número de mutaciones puntuales no letales (del genoma), una población mutante relativamente pequeña (aproximadamente 10.000) es suficiente para saturar el genoma con mutaciones. (Bhat *et al.*, 2007).

Trabajos de inducción de mutaciones y selección de líneas tolerantes a imidazolinonas a través de agentes mutagénico etil metanosulfonato, realizados en el cultivo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en la universidad austral de Chile, alcanzaron encontrar tolerancia al herbicida del grupo de las imidazolinonas (Imazapic + imazapyr), las semillas fueron inducidas con EMS a dosis (1%, 2%, 3%), la que obtuvo resistencia fue la dosis (1%, 2%); Finalmente se determinó que la inducción de mutaciones en semillas de quinua con EMS permite obtener genotipos con mayor tolerancia a herbicidas del grupo de las imidazolinonas (imazapic + imazapyr). (Tropa, 2010).

Por otro lado León (2016), observó retardo y disminución en la floración de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), derivadas de semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS, A los 35 días de cultivo, cuando la mayoría de las plantas provenientes de semillas sin tratar habían florecido, las plantas originadas de semillas tratadas con 20 y 40 mM de EMS no presentaban flores aún, mientras que, las plantas procedentes de semillas expuestas a 30, 50 y 60 mM de EMS, apenas llegaron al inicio de la floración.

Así mismo Porch (2009), en investigaciones anteriores también trabajo con EMS en plantas de frejol común (*Phaseolus vulgaris L.*) en la variedad BAT-93 con dosis de 0,20, 30, 40, 50, y 60Mm encontrando resultados semejantes que a mayores dosis de EMS existe una reducción en la germinación, emergencia y altura de planta.

Arisha *et al.* (2014), realizó investigaciones sometiendo semillas de pimiento (*Capsicum annum L.*) a 11 concentraciones de EMS (0, 0.25, 0.50, 0.75 hasta 2.50%) para determinar la sensibilidad de la primera generación (M1) a mutágenos, el espectro de mutaciones y variabilidad inducida para varios rasgos cuantitativos, incluyendo germinación, altura de planta porcentual, ocurrencia de lesiones, relación de supervivencia, peso de las primeras tres frutas y número de semillas por primera fruta, se observaron en la generación M1 resultados indicando que todos los parámetros de la prueba disminuyeron al aumentar la concentración de EMS, a excepción de la lesión de la plántula.

## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Tipo y nivel de investigación**

##### **2.1.1. Tipo de investigación**

El presente trabajo de investigación se considera del tipo de investigación básica.

##### **2.1.2. Nivel de investigación**

Corresponde al nivel descriptivo y explicativo, ya que se pretende describir y explicar el efecto de agentes mutagénicos físico – químicos sobre el comportamiento morfológico y reproductivo de plantas de *P. volubilis* L., instaladas en campo.

#### **2.2. Diseño de investigación**

De acuerdo a la naturaleza de la investigación, corresponde a un diseño de investigación experimental, puesto que si hay manipulación de la variable independiente, diferentes dosis de radiación gamma y etil metanosulfonato.

#### **2.3. Población y muestra**

##### **2.3.1. Población**

- a) Para semillas tratadas con etil metanosulfonato (EMS), fueron 120 plantas instaladas en campo.
- b) Para semillas tratadas con radiación gamma ( $Co_{60}$ ) fueron 120 plantas instaladas en campo.

##### **2.3.2. Muestra**

Se evaluaron el 100% de plantas de *P. volubilis* L., generadas a partir de semillas tratadas con agente mutagénico físico y químicos.

#### **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Las técnicas utilizadas fueron la observación y toma directa de datos en campo, y el análisis de las plantas de *P. volubilis* L., fue en el laboratorio.

### 2.4.1. Fuentes Primarias

Observación y toma directa de datos en la parcela del cultivo de *P. volubilis* L., análisis de las plantas de *P. volubilis* L., en el laboratorio.

Los instrumentos de recolección de datos fueron fichas de toma de datos en campo, fichas toma de datos en laboratorio y fichas bibliográficas.

### 2.4.2. Fuentes secundarias

Para el desarrollo del presente proyecto se realizó la consulta de estudios similares a esta investigación, principalmente aquellos que utilizaron la misma metodología.

## 2.5. Técnicas de procedimiento y análisis de datos

Para todos los experimentos se empleó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) simples. Para semillas tratadas, etil metanosulfonato (EMS), se evaluaron un total de 120 plantas distribuidas en 4 tratamientos y 3 bloques, empleando 10 unidades experimentales por repetición.

Tabla 1  
*Tratamientos con etil metanosulfonato (EMS).*

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>
T0 EMS	Control (plantas sin someter a EMS)
T1 EMS	Plantas con 1% de EMS
T2 EMS	Plantas con 1.5% de EMS
T3 EMS	Plantas con 2% de EMS

Fuente: Laboratorio de Biología Genética Molecular (2017).

Para semillas tratadas con radiación gamma (RG), se evaluó un total de 120 plantas distribuidas en 4 tratamientos y 3 bloques, empleando 10 unidades experimentales por repetición.

Tabla 2  
Tratamientos con radiación gamma ( $Co_{60}$ ) (RG).

Tratamientos	Descripción
T0 RG	Control (plantas sin irradiar)
T1 RG	Plantas con 500 Gy de Radiación Gamma ( $Co_{60}$ )
T2 RG	Plantas con 550 Gy de Radiación Gamma ( $Co_{60}$ )
T3 RG	Plantas con 600 Gy de Radiación Gamma ( $Co_{60}$ )

Fuente: Laboratorio de Biología Genética Molecular (2017).

## 2.6. Materiales y métodos

### 2.6.1. Materiales

- Material vegetal
  - Plantas mutagenizadas con (EMS y RG)
  - Tutor *Erythrina* sp.
- Herramientas:
  - Machete
  - Palana
  - Cavadora
  - Carretilla
  - Alicates
  - Grampas
  - Quinilla
  - Alambre galvanizado
  - Cinta de pvc
  - Goteros
- Equipo:
  - Tractor

## 2.6.2. Métodos

### A. Ubicación del ensayo

El trabajo de investigación se desarrolló en el campo experimental ubicado en los ambientes de la Ciudad Universitaria. Las plantas de *P. volubilis* L., inducidas con agentes mutagénicos utilizadas en mi trabajo, fueron provistos por el vivero, perteneciente al “Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM)”, ubicado en la “Facultad de Ciencias Agrarias” de la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto (UNSM-T). Las plantas que se llevaron a campo definitivo fueron aquellas que presentaban diferentes características morfológicas visibles, es decir (forma de hojas, fusión de tallos, inhibición de meristemo apical, clorosis, etc.) estas plantas se sembraron en campo definitivo.

#### a) Ubicación política

Distrito : Morales  
Provincia : San Martín  
Departamento : San Martín

#### b) Ubicación geográfica

Latitud Sur : 06°35'28"  
Longitud Oeste : 76°18'47"  
Altitud : 230 m.s.n.m.m.

### B. Instalación del proyecto

#### a) Preparación del terreno

La parcela se distribuyó de acuerdo al croquis establecido (Ver en Anexo 1A).

La primera labor realizada fue la delimitación del área; para el trazado y demarcación del campo experimental se utilizó estacas de madera, cordeles y wincha. Luego se procedió a remover el terreno mediante el uso de maquinarias, realizando labores de arado y nivelación del suelo.

Para la instalación de sistema de tutoraje tipo espaldera, se utilizó una combinación entre tutores muertos y vivos, utilizando 64 postes de “quinilla” y 192 de “erythrinas”, distribuidas en 16 filas, cada fila de 40 metros, entre fila se utilizó 4

postes de “quinilla” cada 15 metros y 12 “erythras” cada 2.5 metros. Entre calles la distancia fue de 3 metros, esto para facilitar la realización de labores agronómicas del cultivo. La instalación del alambre galvanizado (N° 10) fue en 2 filas, la primera a 0.6 metros y la segunda a 1.6 metros de la altura del suelo, el alambre instalado sirvió para el guiado de las ramas de *P. volubilis* L.

Ya habiendo concluido las actividades anteriores se instaló el sistema de riego por goteo, utilizando cintas de pvc, se utilizó una cinta como línea madre y las otras 16 a lo largo de las hileras, ya instaladas las cintas de pvc, se procedió a colocar goteros a lo largo de las hileras cada 2.5 metros, de tal forma que cada gotero este ubicado en la base del tallo de las plantas de *P. volubilis* L.

#### **b) Selección de plantas mutagenizadas e instalación en campo**

Para el presente estudio, se seleccionó plantas del vivero perteneciente al Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), donde el grupo de investigación determinó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ), testando diferentes dosis (0-control, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800 y 900 Gy) de radiación gamma ( $Co_{60}$ ) y concentraciones (0-control, 1, 1.5, 2.0, 2.5 y 3%) de etil metanosulfonato (EMS) en semillas de “sacha inchi” (Mendoza, 2017). En este sentido, los tratamientos que presentaron una mayor frecuencia de alteraciones morfológicas visibles (forma de hojas, fusión de tallos, inhibición de meristemo apical, clorosis, etc.) en condiciones de vivero fueron: Semillas tratadas con etil metanosulfonato, el T1 (1% de EMS), T2 (1.5% de EMS) y T3 (2% de EMS) y su respectivo control T0 (0 % EMS); en semillas sometidas a radiación gamma, el T1 (500 Gy), T2 (550 Gy), T3 (600 Gy) y su control T0 (0 Gy).

#### **c) Manejo agronómico**

- Hoyado: Esta labor se realizó con la ayuda de una cavadora haciendo hoyos de 20 cm de profundidad a distancia de 2.5 m.
- Trasplante: Se realizó el trasplante a campo las plantas de los tratamientos que presentaron una mayor frecuencia de alteraciones morfológicas en vivero, esta labor se logró con la ayuda de una carretilla.
- Sembrado: Esta actividad se ejecutó por las tardes siguiendo el croquis establecido (Ver en anexo 1C).

- Guiado de plantas. Esta actividad se empezó a realizar cuando se observó la elongación de la guía principal de la planta de *P. volubilis* L.
- Plateo de plantas. Consistió en cortar la maleza que se encontraba alrededor de la planta compitiendo con el cultivo de *P. volubilis* L., esto se realizó con la ayuda de una lampa.
- Fertilización. Para la aplicación de fertilizantes se siguió la recomendación de (Manco, 2006).
- Riego. Se realizó cada dos días, con excepción de los días que existió precipitaciones.

## 2.7. Variables evaluadas

### A. Variables cuantitativas

#### a. Altura de planta (cm)

Se procedió a medir la altura de cada planta con la ayuda de una regla graduada de 1 m de largo. La medición se realizó desde la superficie del suelo hasta el meristemo apical de la guía principal de cada planta. La primera evaluación se realizó a los 30 días de haber sido trasplantado a campo definitivo, las evaluaciones posteriores se realizaron cada 15 días hasta el inicio de floración.



Figura 4. Medición de altura (cm) en plantas de *P. volubilis* L., mutagenizadas, a los 30 días después de la siembra.

### **b. Número de ramas**

Se contó el número de ramas (mayores a 5 cm de largo) que poseía cada planta, esta evaluación se realizó al inicio de floración.

### **c. Días a la floración**

Para esta evaluación se consideró los días transcurridos desde la fecha de siembra en campo, hasta el día donde se observó en cada tratamiento el 50 % aproximadamente de plantas mostrando el estadio 01 de desarrollo de inflorescencia, según la escala propuesta por. (Cachique, 2006).



*Figura 5.* Inflorescencia de *P. volubilis* L (estadio 01) observadas en plantas de 60 días.

### **d. Número de flores pistiladas por inflorescencia**

Se contó el número de flores pistiladas de 5 inflorescencias seleccionadas aleatoriamente en cada planta. Esta evaluación se realizó en inflorescencias que se encontraban en el estadio 03 del desarrollo de las flores pistiladas. (Cachique 2006).



*Figura 6.* Flor pistilada de *P. volubilis* L., en el (estadio 03).

#### **e. Número de frutos por planta**

Los frutos evaluados se contabilizaron, a partir del estadio 2 de desarrollo de frutos. (Cachique, 2006). Esto con la finalidad de tener uniformidad en la evaluación.



*Figura 7.* Conteo de frutos *P. volubilis* L., a partir del estadio 2 de desarrollo de frutos.

**f. Número de semillas por fruto**

Se evaluó cinco frutos de cada planta y se contó el número de semillas que poseía cada fruto “cápsula”.

**B. Variables cualitativas****a. Forma de frutos**

Se evaluó la forma de frutos “cápsula” de cada planta en todos los tratamientos inducidos con agentes mutagénicos EMS y RG, esto con el fin de encontrar alguna anomalía.

**b. Estructura de la inflorescencia**

Se observó la morfología de las inflorescencias de las planta de todos los tratamientos, con el fin de encontrar algún cambio o anomalía que se deba al efecto de los agentes mutagénicos EMS y RG.

**c. Receptividad del estigma**

Para esta evaluación se consideró únicamente a aquellas plantas mutagenizadas que no presentaron formación de frutos. Para determinar la receptividad estigmática se empleó el método de Osborn, *et al.*, (1988), Para esto se introdujo la flor pistilada en un micro tubo de 1.5 ml, que contenía peróxido de hidrógeno de 30V. Este método se basa en la reacción de la enzima peroxidasa, al entrar en contacto los estigmas de las flores con el peróxido de hidrógeno, se observa la producción de burbujas esto indica que el estigma es receptivo.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Variables cuantitativas

##### 3.1.1. Altura de planta

Las tablas (3 y 4) y las figuras (8 y 9) muestran el ANVA y la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para altura de plantas de *P. volubilis* L., instaladas en campo evaluados a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.

Tabla 3

*Análisis de Varianza para la altura (cm) de plantas de P. volubilis L., inducidas con EMS evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.*

F.V.	30 días					45 días				60 días			
	SC	Gl	CM	F	p-valor	SC	CM	F	p-valor	SC	CM	F	p-valor
<b>Bloque</b>	255.92	2	127.96	0.52	0.6185	483.75	241.87	0.34	0.7276	1737.06	868.53	0.94	0.4405
<b>Trata.</b>	13664.33	3	4554.78	18.6	0.0019	25999.16	8666.39	12.02	0.006	37283.9	12427.97	13.49	0.0045
<b>Error</b>	1473.41	6	245.57			4326.83	721.14			5526.67	921.11		
<b>Total</b>	15393.66	11				30809.74				44547.63			
$\bar{X}$			93.34 cm				147.79 cm				209.71 cm		
<b>R<sup>2</sup></b>			90%				86%				88%		
<b>CV</b>			16.79%				18.17%				14.47%		
			<b>Significativo</b>				<b>Significativo</b>				<b>Significativo</b>		

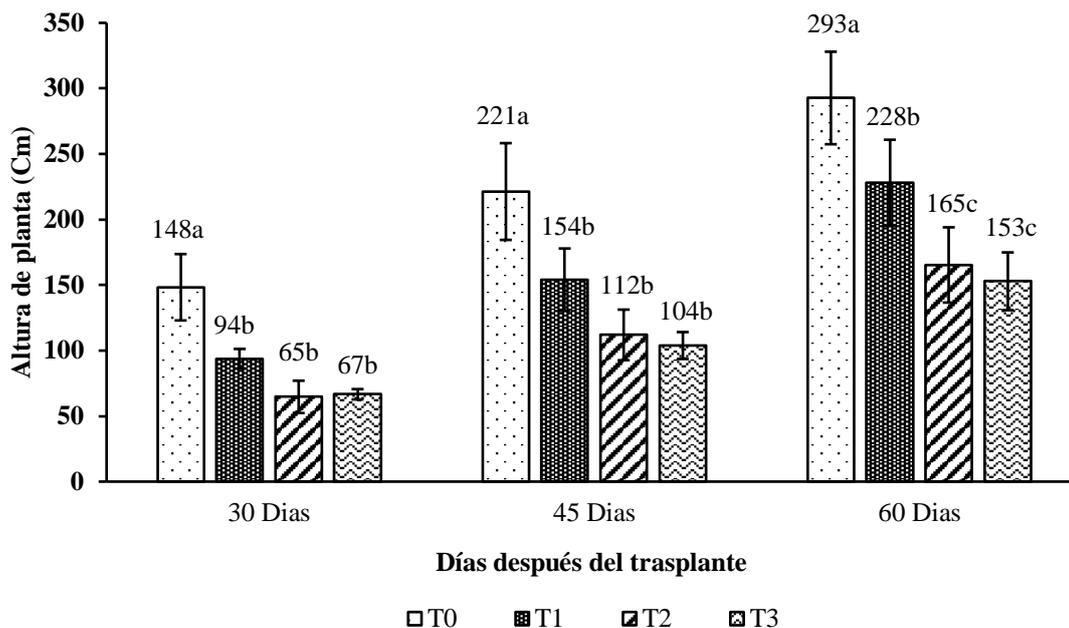


Figura 8. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para la altura (cm) de plantas *P. volubilis* L., inducidas con EMS evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.

El análisis de varianza (Tabla 3) para altura (cm) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS en la primera evaluación a los 30 días después del trasplante muestra una media de 93.34 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 16.79% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 90%, en cambio el análisis de varianza para la segunda evaluación a los 45 días nos muestra una media de 147.79 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 18.17% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 86% y la última evaluación a los 60 días después del trasplante muestra una media 209.71 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 14.47% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 88%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable según (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 8) para la primera evaluación a los 30 días después del trasplante muestra que los tratamientos T1, T2 y T3 (1%, 1.5% y 2% EMS, respectivamente), presentan promedios de altura de 94, 65 y 67 cm, el cual indica que son estadísticamente iguales, a comparación del tratamiento control T0 (0% de EMS) con 148 cm de altura. Estos resultados muestran el efecto de la inducción del agente mutagénico químico en campo definitivo, dando a entender que los efectos de mutación todavía persisten a 30 días después del trasplante. Así mismo el análisis de comparación de medias para la segunda evaluación de altura de plantas de *P. volubilis* L.,

A los 45 días después del trasplante muestra la misma secuencia encontrando a los tratamientos T1, T2 y T3 quienes poseen concentraciones de EMS al 1%, 1.5% y 2%, con promedios de altura de 154, 112 y 104 cm, estadísticamente iguales, con diferencias estadísticas frente al tratamiento control T0 (0% de EMS) con 221 cm de altura, esto nos muestra que a los 45 días después del trasplante el agente mutagénico EMS sigue estando presente causando efecto en la reducción de altura en plantas. La tercera evaluación realizada, se observa el efecto mutagénico a través del tiempo, a 60 días después del trasplante, muestra los tratamientos T2 y T3 quienes poseen mayor concentraciones de EMS al 1.5% y 2% con promedios de altura de 165 y 153 cm de altura siendo estadísticamente iguales, pero diferenciándose del tratamiento T1 (1% de EMS) con promedio de 228 cm de altura y así mismo este muy diferente al tratamiento control T0 (0% de EMS) con 293 cm de altura. Con esta última evaluación se confirma que las diferentes concentraciones de EMS tienen un efecto en la reducción de altura y que existe un mayor efecto a medida que se aumenta la concentración.

En las primeras dos evaluaciones realizadas, se observa el efecto en altura de planta del agente mutagénico EMS teniendo como resultado reducción de altura frente al tratamiento control, en la tercera evaluación a los 60 días después del trasplante se observa con claridad diferencia significativa en la reducción de altura conforme se eleva la concentración, dicha afirmación lo corrobora León (2016), quien realizó trabajo en frejol común (*Faseolus vulgaris* L.) con inducción de EMS a dosis de 0, 20, 30, 40, 50 y 60 mM observando reducción de tamaño a medida que se eleva la dosis. Estos mismos resultados también lo obtuvo Porch (2009), realizados en frejol común con las mismas dosis. Así mismo en un estudio realizado por Benjavad *et al.*, (2012), menciona que el aumento en la concentración de EMS disminuye la altura de planta en el cultivo de arroz (*Oriza sativa* L) de Malasia (cv MR219).

Arisha *et al.*, (2014), en un estudio realizado en pimiento muestra que la altura de la planta se redujo significativamente con el aumento de las concentraciones de EMS. En este sentido, Dhamayanthi y Reddy (2000), mencionan que la reducción de altura está relacionada con la destrucción de auxinas, los cambios en el ácido ascórbico, y a las alteraciones fisiológicas y químicas. De acuerdo con los resultados obtenidos, todos los tratamientos inducidos a concentraciones de 1%, 1.5% y 2% de EMS, redujeron su tamaño a comparación del tratamiento testigo, estos resultados se corrobora con los

autores antes mencionados afirmando que el agente mutagénico EMS afecta a las hormonas presentes en la planta sobre todo las auxinas quienes son las encargadas de la división y elongación celular, ya que su deficiencia o destrucción produce un acortamiento de entre nudos y trae consigo plantas de menor tamaño. Las comparaciones con otras especies de plantas se deben a que no existe trabajos de inducción de mutaciones en el cultivo de *P. volubilis* L., realizados en campo.

Tabla 4

*Análisis de Varianza para la altura (cm) de plantas P. volubilis L., inducidas con RG evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.*

F.V.	30 días					45 días				60 días			
	SC	gl	CM	FC	p-valor	SC	CM	FC	p-valor	SC	CM	FC	p-valor
<b>Bloque</b>	0.96	2	0.48	0.32	0.735	15.43	7.72	0.21	0.8139	239.68	119.84	0.86	0.4688
<b>Trata.</b>	5152.5	3	1717.51	1156	<0.0001	20716.9	6906	190.7	<0.0001	61093	20364	146.46	<0.0001
<b>Error</b>	8.91	6	1.49			217.26	36.2			834.23	139.04		
<b>Total</b>	5162.4	11				20949.6				62166			
$\bar{x}$			36.92 cm				66 cm				122.08 cm		
<b>R<sup>2</sup></b>			100%				99%				99%		
<b>CV</b>			3.30%				9.12%				9.66%		
	<b>Altamente Significativo</b>					<b>Altamente Significativo</b>				<b>Altamente Significativo</b>			

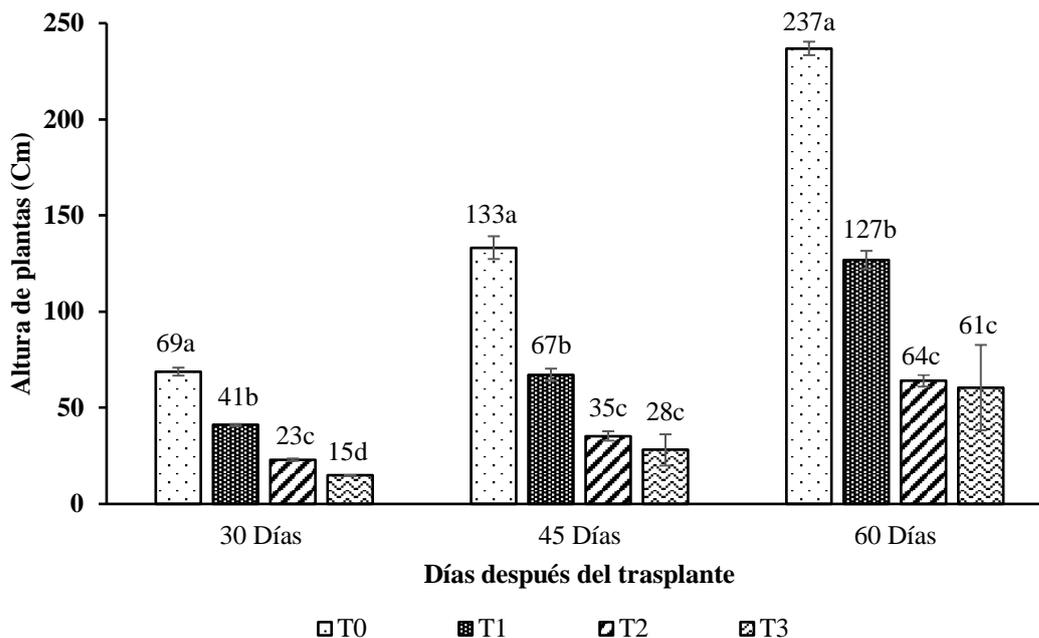


Figura 9. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para la altura (cm) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG evaluadas a los 30, 45 y 60 días después del trasplante.

El análisis de varianza (Tabla 4) para altura (cm) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG en la primera evaluación a los 30 días muestra una media de 36.92 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 3.30% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 100%, en cambio el análisis de varianza para la segunda evaluación a los 45 días nos muestra una media de 66 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 9.12% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99% y la última evaluación a los 60 días después del trasplante muestra una media 122.08 cm de altura con un coeficiente de variabilidad de 9.66% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 99%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 9) muestra una alta diferencia estadística en la primera evaluación. El tratamiento T0 (control sin radiación) con el más alto promedio de altura alcanzando 69 cm, mientras el tratamiento T1 (500 Gy) posee 41 cm, el T2 (550 Gy) posee 23 cm, y el tratamiento T3 (600 Gy) muestra la menor altura con un promedio de 15 cm, estos resultados nos muestran una diferencia estadística altamente significativa de acuerdo a las cantidades de irradiación pudiendo afirmar que a 30 días de haber sido instaladas en campo todavía se puede observar la acción mutagénico de la RG.

A los 45 días después del trasplante las plantas de *P. volubilis* L., evaluadas muestran una altura de 133 cm (T0-control) diferenciándose del T1 (500 Gy) quien posee 67 cm y los tratamientos T2 (550 Gy) y T3 (irradiadas a 600 Gy) quienes poseen 35 y 28 cm de altura siendo estos estadísticamente iguales, esta evaluación también nos demuestra que a los 45 días después del trasplante, la RG sigue causando efecto en las plantas de *P. volubilis*. La tercera evaluación realizada a los 60 días después del trasplante se observa al T0 (control sin radiación) con 237 cm, el promedio de altura más alto frente a los tratamientos que fueron irradiados, mientras que el T1 presenta una altura de 127 cm diferenciándose de los T2 y T3 quienes son estadísticamente iguales, con esta última evaluación se puede confirmar la secuencia del efecto de la RG indicando que a mayor dosis se observa disminución o retraso de la altura de plantas de *P. volubilis* L., instaladas en campo.

Los resultados obtenidos con RG nos muestran que existe gran diferencia significativa entre tratamientos conforme se eleva la dosis de irradiación. Este trabajo coincide con las investigaciones de Soruluz (2015), quien utilizó RG en Centeno (*Secale cereale* L.), a dosis de 100, 150, 250 y 300 Gy encontró variación de altura de 1.6 a 16.2 observándose disminución de altura con el incremento de la dosis. Así mismo, resultados semejantes fueron reportados por Fe *et al.*, (2000), quienes obtuvieron los mismos resultados de reducción de altura a mayores dosis, estos estudios lo realizaron en la Habana, en el cultivo de soya (*Glycine max*). Los resultados obtenidos de reducción de altura en plantas de *P. volubilis* L., a través de RG se contrasta con lo mencionado por Iqbal (1969), quien menciona que la reducción de altura a partir de semillas tratadas con dosis altas de RG se debe fundamentalmente a daños en el proceso de división y elongación celular, por rotura de los cromosomas y cromáticas que son responsables de reordenaciones estructurales que afectan a los cromosomas y en anomalías durante la mitosis y meiosis mencionado por (Watkin, 1965). A si mismo Ling (2008), menciona que esto podría deberse a las reducciones en las cantidades de reguladores endógenos del crecimiento, en particular las citoquinas, como consecuencia de la descomposición o falta de síntesis debido a la irradiación. Por contraste, la inhibición del crecimiento inducida a través de la irradiación de altas dosis se ha atribuido a la detención del ciclo celular durante la somática división celular y / o una variedad de daños en el genoma. (Preuss, 2003).

### 3.1.2. Número de ramas por planta

Las tablas (5 y 6) muestran los resultados del análisis de varianza EMS y RG para el número de ramas por planta de *P. volubilis* L.

Tabla 5

*Análisis de Varianza para el número de ramas por plantas de P. volubilis L., inducidas con EMS evaluado al inicio de floración.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	4.32	5	0.86	2.72	0.1275
<b>Bloques</b>	0.25	2	0.12	0.39	0.6951
<b>Tratamientos</b>	4.07	3	1.36	4.28	0.0617
<b>Error</b>	1.91	6	0.32		
<b>Total</b>	6.23	11			
	R <sup>2</sup> = 69%	CV= 17.36%		$\bar{X}$ = 3.25 ramas	

No significativo

El análisis de varianza (Tabla 5) para el número de ramas por planta *P. volubilis* L., inducidas con EMS, indica que no existió diferencias entre los 4 tratamientos, mostrando una media de 3.25 ramas por planta con un coeficiente de variabilidad de 17.36% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 69%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

Los resultados encontrados en la variable número de ramas por planta no se observó diferencia significativa entre tratamientos es decir que estadísticamente todos los tratamientos son iguales, ninguna de las distintas dosis de concentraciones de EMS influyó en el aumento o disminución de número de ramas. Este trabajo coincide con las investigaciones de Jabeen y Mirza (2004), quienes realizaron un estudio de inducción de EMS en *Capsicum annuum* cultivar Longhi, encontrando que los mutantes evaluados de los distintos tratamientos poseen una cantidad estadísticamente iguales al control, sin embargo, Zaka *et al.*, (2004), menciona que el agente EMS a dosis bajas altera las tasas de división celular así como a la activación de la hormona del crecimiento, por ejemplo, la auxina. Se puede inferir que el agente mutagénico EMS en el cultivo de *P. volubilis* L., no influyó en las hormonas de crecimiento encargada de división celular y activadora de yemas laterales y/o rama.

Tabla 6  
*Análisis de Varianza para el número de ramas por plantas de P. volubilis L., inducidas con RG, evaluado al inicio de floración.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F C</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	12.72	5	2.54	4.93	0.0388
<b>Bloques</b>	6.49	2	3.25	6.3	0.0336
<b>Tratamientos</b>	6.22	3	2.07	4.02	0.0693
<b>Error</b>	3.09	6	0.52		
<b>Total</b>	15.81	11			
	R <sup>2</sup> = 80%	CV= 45.12%		$\bar{X}$ = 1.6 ramas	

No significativo

El análisis de varianza (Tabla 6) para el número de ramas por plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG indica que no existió diferencias entre los 4 tratamientos, mostrando una media de 1.6 ramas por planta con un coeficiente de variabilidad de 45.12% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 80%, resultados que no están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

Los resultados obtenidos en la variable de número de ramas por planta mostraron, que no existe diferencia significativa entre tratamientos, estadísticamente todos los tratamientos son iguales, en cada una de las dosis de RG. Este trabajo no coincide con las investigaciones de Gomez, Equiluz y Falconi (2010), quienes realizaron trabajos en *Chenopodium quinoa* Willd, tratada con dosis de 150, 250 y 350 Gy de rayos gamma, observaron que a dosis de 150 y 250 Gy causan mutaciones en la ramificación de las plantas, se puede inferir que la RG causó una disminución de las hormonas ácido indól acético la que es la encargada de inhibir el desarrollo de las yemas axiales. (Pabón, 2011). Sin embargo, en el presente trabajo no se observó estos efectos debido que no hubo efecto a las células encargadas de la división celular, así como a la hormona giberelina, es por ello que se observó uniformidad en cuanto al número de ramas en todos los tratamientos.

### 3.1.3. Días a la floración

Las tablas (7 y 8) y las figuras (10 y 11) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS y RG muestra el ANVA y la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para días a la floración evaluadas hasta observar el 50% de plantas en floración en cada tratamiento.

Tabla 7  
Análisis de Varianza para el número de días a la floración después del trasplante de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS.

F.V.	SC	Gl	CM	FC	p-valor
<b>Modelo.</b>	172.17	5	34.43	4.64	0.0443
<b>Bloques</b>	10.17	2	5.08	0.69	0.5394
<b>Tratamientos</b>	162	3	54	7.28	0.02
<b>Error</b>	44.5	6	7.42		
<b>Total</b>	216.67	11			
	R <sup>2</sup> = 79%	CV= 4.28%		$\bar{X}$ = 63.67 Días	

\* = Significativo

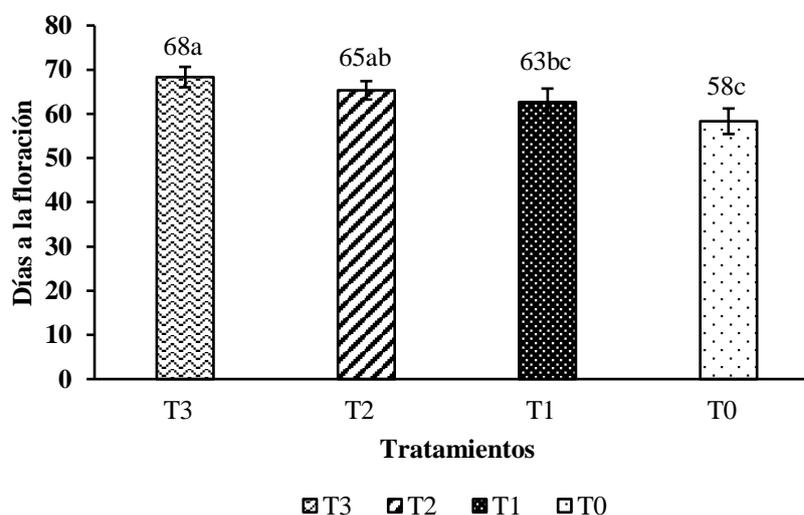


Figura 10. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el número de días a la floración después del trasplante de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS.

El análisis de varianza (Tabla 7) para el número de días a la floración después del trasplante en plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS muestran diferencias significativas entre los promedios de días a la floración obtenidos por los 4 tratamientos, esto a su vez indica que si existe incidencia de la inducción del EMS, mostrando una media de 63.67 días después del trasplante con un coeficiente de variabilidad de 4.28% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 79%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 10) muestra que los promedios del tratamiento T0 (control 0% EMS) con 58 días después del trasplante, es el que presentó el menor tiempo a la floración, en cambio los tratamientos que poseen concentraciones de EMS como el T1 (1% EMS) y T2 (1.5% EMS) con 65 y 62 días son

estadísticamente iguales, por otro lado el tratamiento T3 (2% EMS) con 68 días después del trasplante es el que obtuvo mayor tiempo para alcanzar la floración diferenciándose estadísticamente con el testigo con un lapso de tiempo de 10 días, demostrando de esta manera que si existe incidencia y efecto del agente mutagénico EMS retrasando y haciendo más largo los días a la floración de las plantas de *P. volubilis* L.

Estos resultados se pueden corroborar con Jabeen y Mirza (2004), quienes realizaron estudios en pimiento (*Capsicum annuum*) utilizando tres concentraciones de EMS (0.01, 0.1 y 0.5) y llegaron a obtener resultados de retraso de la floración a causa del aumento de las concentraciones; en un estudio similar en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) derivadas de semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS. León (2016), observó retardo y disminución en la floración a medida que se incrementaba la dosis incluso no llegó a florecer en las dosis más altas, con la dosis de 30 Mm la floración se retrasó 13 días, en cambio en las plantas de *P. volubilis* el retraso de la floración en la dosis de 2% fue de 10 días con estos resultados se afirma que existe efecto inhibitor del EMS en las células somáticas.

Aunque las citoquininas tienden a ser más favorables al crecimiento vegetativo, tienen la capacidad de estimular la floración en varias plantas con el aumento de la dosis de EMS. (Van Staden y Dickens, 1991). Así lo menciona Greco *et al.*, (1984) quien realizó trabajos con EMS y llegó a encontrar, influencia de las citoquininas la cual es muy determinante en el tiempo a la floración en el tejido de girasol. (Greco *et al.*, 1984).

Tabla 8

*Análisis de Varianza para el número de días a la floración después del trasplante de plantas de P. volubilis L., inducidas con RG.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>Gl</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	602	5	120.4	12.75	0.0038
<b>Bloques</b>	108.67	2	54.33	5.75	0.0403
<b>Tratamientos</b>	493.33	3	164.44	17.41	0.0023
<b>Error</b>	56.67	6	9.44		
<b>Total</b>	658.67	11			
	R <sup>2</sup> = 91%	CV= 4.37%		$\bar{x}$ = 70 días	

\* = Significativo

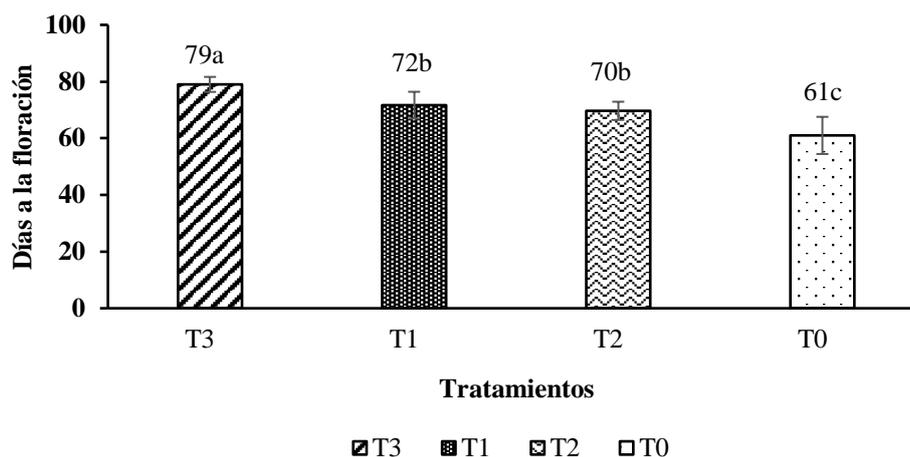


Figura 11. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el número de días a la floración después del trasplante de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG.

El análisis de varianza (Tabla 8) para el número de días a la floración después del trasplante en plantas *P. volubilis* L., inducidas con RG muestran diferencias altamente significativas entre los promedios de días a la floración obtenidos por los 4 tratamientos, esto a su vez indica que si existió incidencia de la inducción de RG, mostrando una media de 70 días después del trasplante con un coeficiente de variabilidad de 4.37% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 91%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 11) muestra que los promedios del tratamiento T0 (control 0 RG) con 61 días después del trasplante, es el que obtuvo el menor tiempo a la floración, en cambio los tratamientos que fueron irradiados como el T2 (550 Gy) y T1 (500 Gy) con 69 y 71 días son estadísticamente iguales, por otro lado el tratamiento T3 (600 Gy) con 79 días después del trasplante es el tratamiento que obtuvo mayor tiempo para alcanzar la floración diferenciándose del testigo con un lapso de tiempo de 18 días, demostrando de esta manera que si existe incidencia del agente mutagénico RG retrasando y haciendo más largo los días a la floración de las plantas de *P. volubilis* L.

Los resultados encontrados en semillas de *P. volubilis* L., irradiadas con distintas dosis no muestran semejanzas a otros trabajos de investigación realizado. Dhillon *et al.*, (2014), encontró precocidad en la floración en plantas de *Jatropha curcas* L., sometidas a RG. Soruluz (2015), por su parte empleo rayos gamma en el cultivo de Centeno (*Secale cereale* L.) a dosis de 100, 150, 250 y 300 Gy encontrando precocidad en las dosis altas en 20 días respecto al control. Estos resultados coinciden con las investigaciones de

Aldaba (2014), quien menciona que las mutaciones aumentan la precocidad a una frecuencia de 0.198 en *Hordeum vulgare* L., obtenidas con una dosis de 250 Gray; del mismo modo Argumedo (2013), obtuvo plantas con 12 días de precocidad frente al testigo en una población de mutantes de *Triticum turgidum* spp irradiadas a dosis de 200 y 300 Gy. Por otro lado, Reyes (2004), encontró que a dosis de 150 Gy en el cultivo de *Triticum turgidum* el 45Gy % de los mutantes presentaron precocidad frente al testigo y a dosis de 250 fue del 70,29 %.

En el trabajo realizado no se observó precocidad, por lo contrario, hubo un retraso en la floración, Randoux *et al.* (2012), indican que las hormonas giberelinas son promotoras de crecimiento, dormancia de la semilla y retardos en la floración. Fornara *et al.*, (2010), citado por Blázquez., Piñeiro y Valverde. (2011), mencionan que las mutaciones que inhiban la vía de síntesis de esta hormona o que aumenten su degradación provocan retraso de la floración. En el trabajo realizado la RG produce deficiencia en la síntesis de hormona impidiendo que las células vegetales puedan expandirse lo que provoca un tamaño reducido de la planta y esto a la vez provoca retraso en la floración (Blázquez, Piñeiro y Valverde. 2011).

### 3.1.4. Número de flores pistiladas por inflorescencia

Las tablas (9 y 10) y la figura (12) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS y RG muestran el ANVA y la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para número de flores pistiladas por inflorescencia en cada tratamiento, altamente significativo para EMS y no significativo para RG.

Tabla 9

*Análisis de Varianza para el número de flores pistiladas por inflorescencia a plantas de P. volubilis L., inducidas con EMS.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0.79	5	0.16	11.75	0.0047
<b>Bloques</b>	0.03	2	0.02	1.16	0.3758
<b>Tratamientos</b>	0.76	3	0.25	18.8	0.0019
<b>Error</b>	0.08	6	0.01		
<b>Total</b>	0.87	11			
	R <sup>2</sup> = 91%	CV= 8.18%		$\bar{x}$ = 1.42	

\*\* = Altamente Significativo

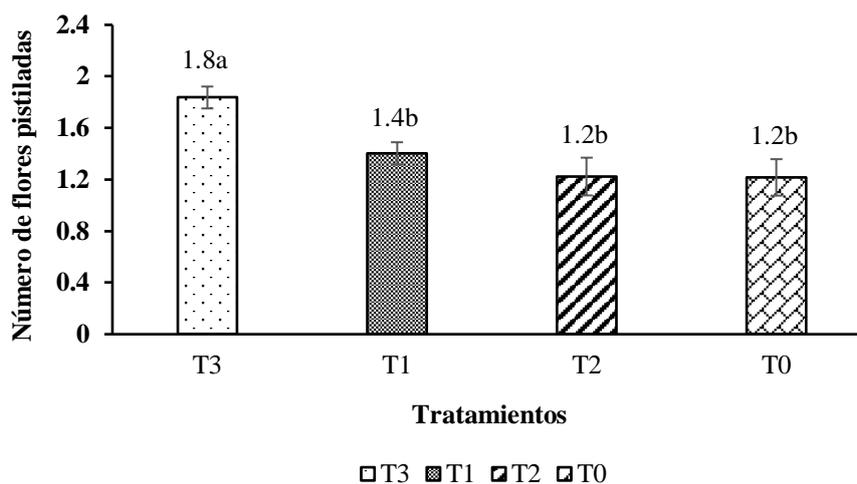


Figura 12. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el número de flores pistiladas por inflorescencia de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS.

El análisis de varianza (Tabla 9) para el número de flores pistiladas por inflorescencias en plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS muestran diferencias altamente significativas entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, mostrando una media de 1.42 flores pistiladas por inflorescencias con un coeficiente de variabilidad de 8.18% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 91%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 12) muestra que los promedios del tratamiento T0 (control 0% EMS) y los tratamientos inducidos con EMS como T1 (1% de EMS) y T2 (1.5%) con 1.2, 1.4 y 1.2 son estadísticamente iguales, en cambio el T3 (2% de EMS) con 1.8 flores pistiladas por inflorescencia es el que obtuvo mayor cantidad a comparación de los demás tratamientos.

Este parámetro muestra diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento T3 con 2% EMS, donde se observa que el número de flores pistiladas por plantas *P. volubilis* L., aumenta significativamente. Arévalo (1995), menciona que la planta de *P. volubilis* L., sin ser sometida a EMS posee en mayor frecuencia una flor pistilada por inflorescencia, ocasionalmente dos flores pistiladas por inflorescencia; del mismo modo Cachique (2006), en su trabajo de investigación “biología floral y reproductiva de *plukenetia volubilis* L.”, reafirma lo mencionado por Arévalo (1995), que la planta de *plukenetia volubilis* L., posee frecuentemente una flor pistilada. En este sentido podemos concluir que las mutaciones aumentaron el número de flores pistiladas por cada inflorescencia.

Concentraciones altas de EMS estudiadas causaron retardo y disminución de la floración, esto se relacionado al efecto inhibitor del agente mutagénico EMS (Dhakshanamoorthy et al., 2010). Este efecto en la floración es generalmente debido a la ocurrencia de daños biológicos en las plántulas que provocan mortalidad y esterilidad (Konzak *et al.*, 1965).

Tabla 10

*Análisis de Varianza para el número de flores pistiladas por inflorescencia a plantas de P. volubilis L., inducidos con RG.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>Gl</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0.04	5	0.01	1.97	0.2164
<b>Bloques</b>	0.01	2	2.70E-03	0.74	0.5165
<b>Tratamientos</b>	0.03	3	0.01	2.79	0.1316
<b>Error</b>	0.02	6	3.70E-03		
<b>Total</b>	0.06	11			
	R <sup>2</sup> = 62%	CV= 5.48%		$\bar{x}$ = 1.11	

No significativo

El análisis de varianza (Tabla 10) para el número de flores pistiladas por inflorescencias en plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG no muestran diferencias entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, mostrando una media de 1.11 flores pistiladas por inflorescencias con un coeficiente de variabilidad de 5.48% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 62%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

Estos resultados encontrados en el análisis de varianza nos muestran que no existe diferencias estadísticas de número de flores pistiladas por inflorescencia de este modo se puede mencionar que no existe efecto de la RG en este parámetro evaluado. Así mismo Arévalo 1995 y Cachique (2006), mencionan que la planta de *P. volubilis* L., sin ser sometida a agentes mutagénicos posee en la parte basal de la inflorescencia de 1 a 2 flores pistiladas y afirman que la planta presenta esta característica en los distintos ecotipos presentes en la región San Martín. Sin embargo Kionget *et al.*, (2008), menciona que la sensibilidad de las plantas es mayor después de las irradiaciones a dosis altas y podría deberse a un nivel reducido de hormonas de crecimiento endógenas, tales como las citoquininas, como resultado de la descomposición o falta de síntesis.

### 3.1.5. Número de frutos por planta

Las tablas (11 y 12) y las figuras (13 y 14) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS y RG muestra el ANVA y la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para número de frutos por plantas en cada tratamiento, altamente significativo para EMS y RG.

Tabla 11

*Análisis de Varianza para el número de frutos por planta de P. volubilis L., inducido con EMS.*

F.V.	SC	Gl	CM	FC	p-valor
<b>Modelo</b>	928.57	5	185.71	21.21	0.0009
<b>Bloques</b>	31.62	2	15.81	1.81	0.2432
<b>Tratamientos</b>	896.95	3	298.98	34.15	0.0004
<b>Error</b>	52.52	6	8.75		
<b>Total</b>	981.1	11			
	R <sup>2</sup> = 95%	CV= 18.47%		$\bar{x}$ = 16	

\*\* = Altamente Significativo

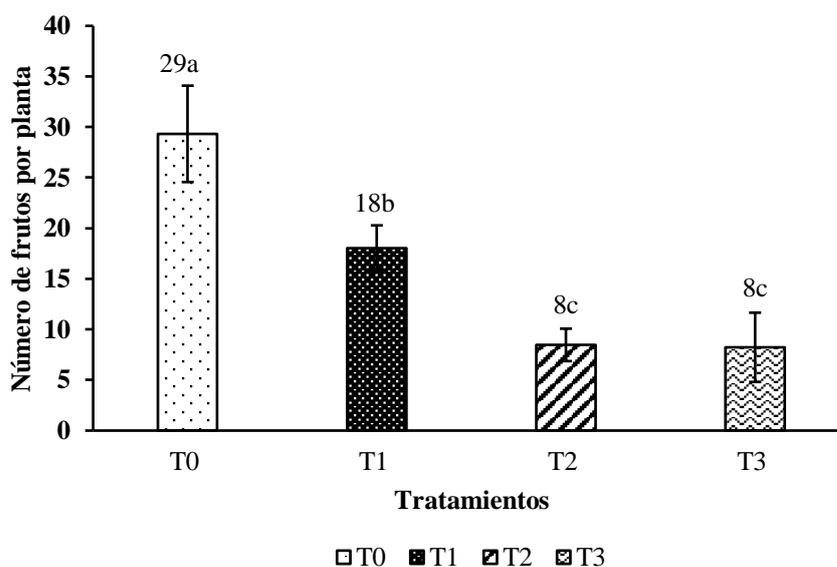


Figura 13. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el número de frutos por planta *P. volubilis* L., inducidas con EMS.

El análisis de varianza (Tabla 11) para el número de frutos por planta *P. volubilis* L., inducidas con EMS muestra diferencias altamente significativas entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, mostrando una media de 16 frutos por planta de “sacha inchi” con un coeficiente de variabilidad 18.47% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ )

de 95%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 13) muestra que los promedios del tratamiento T0 (control 0% de EMS) con 29 frutos por plantas es más alto a comparación de los tratamientos que poseen una concentración de EMS como el T1 (1% de EMS) con 18 frutos y con menor cantidad encontramos a los tratamientos T2 (1.5% de EMS) y T3 (2% de EMS) con 8 frutos cada uno quienes son estadísticamente iguales, aquí también podemos afirmar que la inducción de EMS persiste a lo largo del tiempo produciendo así efecto en la disminución de frutos a mayores dosis de concentración.

Estos resultados encontrados difieren de otros estudios realizados con inducción de EMS en otros cultivos, es el caso de Jabeen y Mirza (2004), obtuvieron plantas mutantes con inducción de EMS en el cultivo de pimiento (*Capsicum annum*) encontraron una cantidad de frutos mayor que el control con una diferencia de entre 19 a 31 fruto más estos rasgos están controlados por la cantidad de genes que se denominan herencia poligénica. Otro trabajo realizado por León (2016), en el cultivo de frejol no observó diferencia significativa es decir el número de legumbres por planta fue el mismo estadísticamente en todos sus tratamientos. En cambio, en el presente trabajo de investigación se observó una disminución de frutos mientras se eleva la concentración de EMS. Leandro *et al.*, (1990), menciona que los genes como Leafy y Ap1 involucrados en la floración y posteriormente en el desarrollo de la fruta se han afectados de forma positiva o negativa por el agente EMS.

Tabla 12

*Análisis de Varianza para el número de frutos por planta de P. volubilis L., inducido con RG.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo.</b>	1071.48	5	214.3	61.17	<0.0001
<b>Bloques</b>	17.62	2	8.81	2.52	0.1609
<b>Tratamientos</b>	1053.86	3	351.29	100.28	<0.0001
<b>Error</b>	21.02	6	3.5		
<b>Total</b>	1092.5	11			
	R <sup>2</sup> = 98%	CV= 19.46%			$\bar{x}$ = 9.61

\*\* = Altamente Significativo

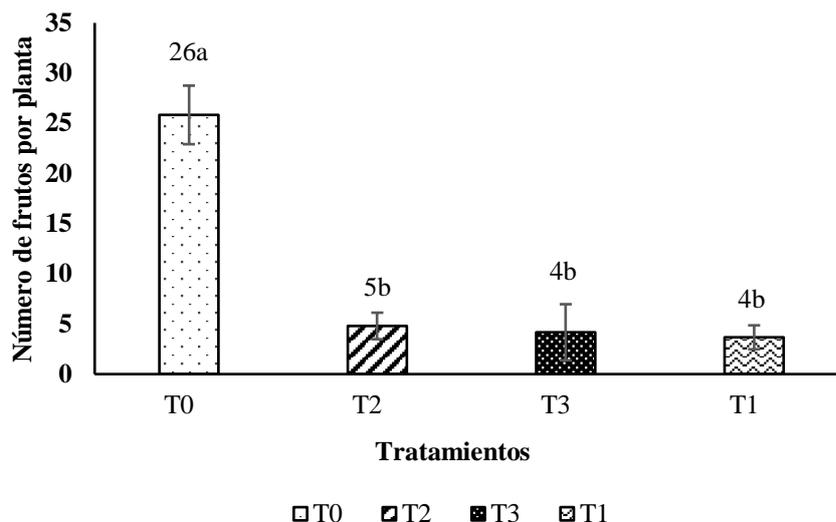


Figura 14. Prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el número de frutos por plantas de *P. volubilis* L., inducidas con RG.

El análisis de varianza (Tabla 12) para el número de frutos por planta de *P. volubilis* L., inducidas con RG muestra diferencias altamente significativas entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, mostrando una media de 9.61 frutos por planta de “sacha inchi” con un coeficiente de variabilidad 19.46% y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 98%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

El análisis de comparación de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) (Figura 14) muestra los promedios del tratamiento T0 (control) con 26 frutos por planta adquiriendo así una gran diferencia estadística frente a los tratamientos irradiados como el T2 (550 Gy), T3 (600 Gy) y T1 (500 Gy) con 5, 4 y 4 frutos por planta quienes son estadísticamente iguales, para este caso también afirmaremos que si existe efecto de la RG sobre la producción de frutos ya que se ve una diferencia muy significativa frente al control.

El aumento de la dosis de radiación por tratamiento muestra disminución de frutos por planta encontrando diferencias altamente significativas estos resultados se puede corroborar con el trabajo de Soraluz (2015), quien empleo RG en el cultivo de Centeno (*Secale montanum*.) encontrando variaciones en la cantidad de espigas al aumentar la dosis, caso contrario sucedió con Alvarez *et al.*, (2013), quien realizó trabajos con RG en el cultivo de Pimiento (*Capsicum annuum* L.), encontrando rendimientos significativos conforme se elevaba la dosis de 87% más que el control. Sin embargo, Geraskin (1995), menciona que la radiación produce la interacción de los productos primarios con las

macromoléculas no afectadas, formándose peróxidos orgánicos y la ocurrencia de reacciones de oxidación que provocan la aparición de nuevos compuestos químicos, como los ginones. Estos no son más que un complejo de sustancias biológicamente activas, que, su concepto se ha generalizado a una serie de metabolitos comunes o poco comunes que se acumulan en el organismo por efecto de la irradiación y que a bajas concentraciones estimulan el metabolismo general de las plantas, incrementándose el rendimiento y la calidad de las cosechas.

### 3.1.6. Número de semillas por fruto (cápsula)

Las tablas (13 y 14) de plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS y RG muestra el ANVA, para el número de semillas por fruto, no significativo para ambos casos.

Tabla 13

*Análisis de Varianza para el número de semillas por fruto (cápsula) de plantas de P. volubilis L., inducidas con EMS.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0.42	5	0.08	1	0.4894
<b>Bloques</b>	0.17	2	0.08	1	0.4219
<b>Tratamientos</b>	0.25	3	0.08	1	0.4547
<b>Error</b>	0.5	6	0.08		
<b>Total</b>	0.92	11			
	R <sup>2</sup> = 45%	CV= 7.07%		$\bar{x}$ = 4	

No significativo

El análisis de varianza (Tabla 13) para el número de semillas por fruto en plantas de *P. volubilis* L., inducidas con EMS no muestran diferencias entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, obteniendo una media de 4 semillas por fruto (cápsula) con un coeficiente de variabilidad de 7.07% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 45%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

Estos resultados muestran que el agente mutagénico EMS no causó ningún efecto en el número de semillas por cápsula de las plantas de *P. volubilis* L., Manco (2005), menciona que las planta de *P. volubilis* L., sin ser inducida con agentes mutagénicos EMS posee 4 semillas por cápsula y son llamadas tetra lobuladas, sin embargo, INIA (2006) afirma que la planta de *P. volubilis* L., puede llegar a tener de 4 hasta 7 semillas por cápsula. Sin embargo, León (2016), en un estudio realizado con EMS al cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. menciona que el número de semillas disminuyo en un 50% menos

que el control a concentraciones más elevadas. Sin embargo, en mi investigación solo se logró obtener 4 semillas por cápsula en promedio por tratamiento, pero no se descarta que si existió cápsulas con más de 4 y/o menos semillas.

Para el número de semillas por fruto está determinado por ciertos genes implicados en rasgos controlados, se denomina herencia poligénica (Dhakshanamoorthy *et al.*, 2010). Por otro lado, Jabeen y Mirza (2004) declararon que esto es más probable debido a mutaciones en uno o más de un gen, involucrado en la floración y posteriormente en el desarrollo de la fruta.

Tabla 14

*Análisis de Varianza para el número de semillas por fruto (cápsula) de plantas de P. volubilis L., inducidas con RG.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>FC</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0.08	5	0.02	0.36	0.8613
<b>Bloques</b>	0.03	2	0.02	0.34	0.7277
<b>Tratamientos</b>	0.05	3	0.02	0.37	0.7775
<b>Error</b>	0.27	6	0.05		
<b>Total</b>	0.35	11			
	R <sup>2</sup> = 23%	CV= 5.12%		$\bar{x}$ = 4	

No significativo

El análisis de varianza (Tabla 14) para el número de semillas por fruto en plantas de *P.volubilis* L., inducidas con RG no muestran diferencias entre los promedios obtenidos de los 4 tratamientos, obteniendo una media de 4 semillas por fruto (cápsula) con un coeficiente de variabilidad de 5.12% y un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 23%, resultados que están dentro del rango de dispersión aceptable en campo. (Calzada, 1982).

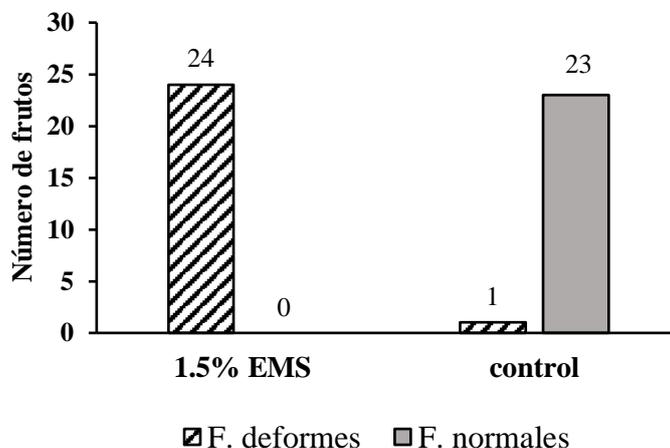
Los resultados obtenidos muestran que la RG no causó ningún efecto en el número de semillas por cápsula de las plantas de “sacha inchi”. Akgun y Tosun (2004), sometieron semillas de Centeno (*Secale cereale* L.) a RG encontrando diferencias en el número de granos por espiga al aumentar las dosis se observó efecto de disminución de la cantidad de granos. Estos resultados indican que la irradiación a dosis altas causa disminución de semillas por fruto caso que no sucedió en este trabajo, sin embargo, Álvarez *et al.*, (2012), menciona que dosis bajas de radiación provoca un efecto estimulante significativo que los radicales libres, iones y moléculas excitadas que se forman por su efecto contribuyen a una mayor eficiencia en la utilización de las vías

bioquímico – metabólicas, las cuales se reflejan en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por otro lado trabajos de Manco (2005), menciona que las plantas de *P. volubilis* L., sin ser irradiadas posee 4 semillas por cápsula y son llamadas tetra lobuladas sin embargo INIA (2006), afirma que la planta de “sacha inchi” puede llegar a tener de 5 a 7 semillas por cápsula, en la investigación realizada solo se logró obtener 4 semillas por cápsula en promedio por tratamiento, pero no se descarta que si existió cápsulas con más y/o menos de 4 semillas.

### 3.2. Variables cualitativas

#### 3.2.1. Forma de frutos

El agente mutagénico EMS ocasionó que una planta presente cápsulas deformes, en cambio ninguno de los tratamientos con RG produjo planta con esta deformación. Esta planta se observó en el tratamiento T2 a concentración de 1.5% de EMS, mostrando este efecto desde el inicio de formación de la cápsula hasta llegar a su maduración (*Figura 16 B*) se contabilizó 24 frutos de toda la planta para ver la cantidad que presenta deformación frente al testigo (*Figura 15*)



*Figura 15.* Número de frutos deformados de la planta con 1.5% de EMS y la planta control.



Figura 16. Deformación de frutos de plantas de *P. volubilis* L., A) Cápsulas normales de planta control; B) Cápsulas deformes de planta a concentración del 1.5% de EMS.

En la (Figura 15) muestra que las cápsulas deformes de la planta con 1.5% EMS es de 100% mostrando a los 24 frutos deformes a comparación de los frutos de la planta control tiene solo uno, y los demás 23 son frutos normales lo cual la planta con 1.5% de EMS no tiene frutos normales de esta manera podemos afirmar que la inducción de EMS al 1.5% de EMS afecto a la planta completa, mostrando la característica en la deformación de frutos.

Estos resultados en el (Figura 15 y la Figura 16 B) indican que existió una planta a concentración de 1.5% de EMS que mostró frutos deformes, presentando esta característica desde el inicio de formación del fruto y persistió hasta la maduración. Estudios han demostrado que la inducción del EMS produce cambios visibles en las plantas mostrando tamaños y forma variadas de los frutos. (Donine *et al.*, 1984).

### 3.2.2. Reversión floral

Ambos agentes mutagénicos RG y EMS ocasionaron reversión floral en las inflorescencias de las plantas de *P. volubilis* L., Este efecto se observó en dos plantas, pero en una sola rama/planta (quimerismo) de cada tratamiento, una en el tratamiento T3 (600 Gy) y la otra en el tratamiento T1 (1% EMS). En ambos agentes mutagénicos la reversión floral ocasiono que el número de flores pistiladas por inflorescencia sea de 5 – 7 frente a 1 – 2 de la planta control (Figura 17 A); observándose que todas las flores pistiladas aparecieron en la misma posición donde normalmente se ubicarían las flores

estaminadas (*Figura 17 B y C*). Este mismo efecto (reversión floral) fue observado en plantas que fueron tratadas con exógena de 6-benciladenina durante la floración. (Qiantang Fua, 2014). En este sentido, estas dos plantas probablemente hayan experimentado un aumento de la hormona benciladenina consecuencia de la RG y EMS. Después de varias semanas las flores pistiladas revertidas, comenzaron a secarse y caer esto probablemente a que no llegaron a polinizarse, lo cual demuestra que las flores revertidas eran estériles (*Figura 17 D*).



*Figura 17.* Reversión de flores masculinas en flores femeninas en inflorescencias de *P. volubilis* L., (A) Inflorescencia de planta control; (B) inflorescencia de planta tratado con RG 600 Gy; (C) inflorescencia de planta tratado con 1% EMS; (D) inflorescencias secas de las plantas que presentaron reversión floral. Las flechas azules indican flores femeninas nativas, la flecha amarilla indican botones de flores masculinas y las flechas rojas indican las flores que presentan reversión de masculinas a femeninas inducidas por RG y EMS.

Una de las ramas de la planta con RG y EMS dio como resultado la reversión de las flores estaminadas en flores pistiladas como se observa en la (*Figura 17 B y C*) pero estas flores producto de la reversión floral no lograron fecundarse es decir no llegaron a producir frutos, ya que a los 45 días de haberse visto se observó la caída y el secado por completo de estas inflorescencias en toda la rama (*Figura 17 D*). La mayoría de las plantas inducidas con RG y EMS mostraron una morfología normal en cambio solo estas dos plantas de RG y EMS presentaron estas anomalías. Así mismo la aparición de reversión floral en una sola rama de las plantas se debe a quimerismo corroborado por Ichikawa (1973) citado por Máximo (2014). Quienes mencionan que el quimerismo sucede cuando la irradiación, se realiza en semillas, las plantas son quiméricas a causa de que los embriones irradiados están formados por varias células; Entonces, solamente una parte de las espigas, mazorcas, panículas o inflorescencia de plantas son heterocigóticas para una mutación; Esto es, cada una de las mazorcas, espigas, panículas o inflorescencias

de la misma planta es en muchos casos gen o típicamente independiente de otras. En otros estudios se ha demostrado que varias hormonas, como la citoquinina, el etileno, las gibelinas y las auxinas, se utilizado con éxito para revertir flores masculinas a femeninas en muchas especies vegetales. (Golenberg y West, 2013). Estudios recientes encontraron efectos de la aplicación exógena de 6-benciladenina (BA, un compuesto sintético con actividad de citoquinina) sobre la feminización floral y el rendimiento de fruta de *P. volubilis* L. (Qiantang Fua, 2014).

### 3.2.3. Receptividad estigmática

La RG y EMS causaron infertilidad en 3 plantas de *P. volubilis* L., estos efectos se presentaron en 2 plantas a dosis de 600 Gy y 1 a concentraciones de 2% de EMS encontrando plantas con todo sus órganos reproductivas (flores masculinas y femeninas) pero sin embargo no existe fruto fecundado, es por ello que se decidió realizar una prueba de receptividad estigmática mediante el método de (Osborn *et al.*, 1988), se basa en la reacción de la enzima peroxidasa al colocar una gota de peróxido de hidrógeno al 30% sobre los estigmas de las flores.

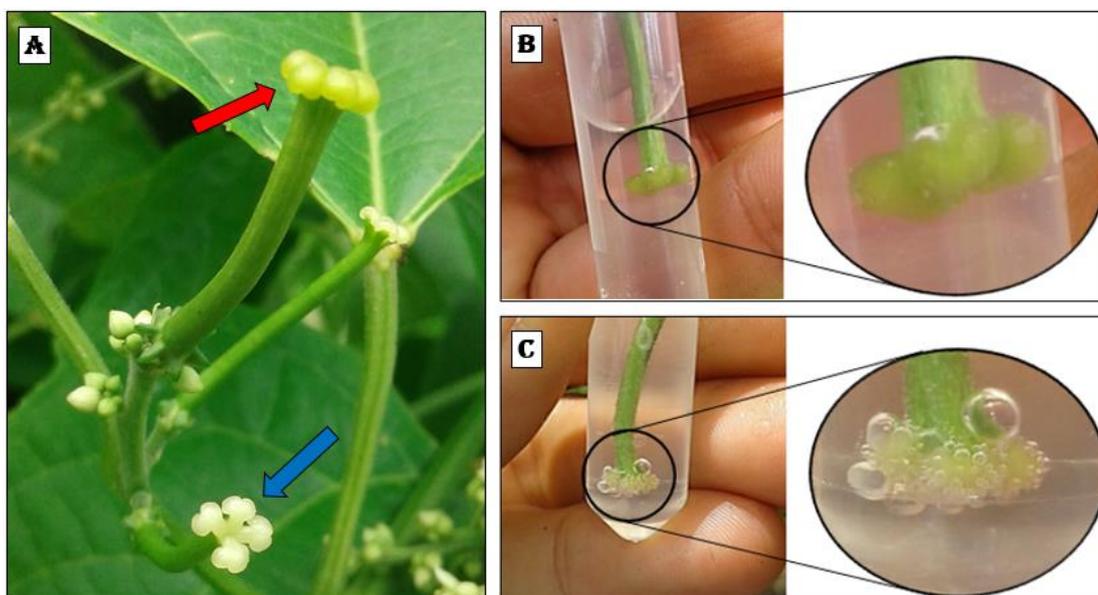


Figura 18. Receptividad estigmática en flores de plantas estériles .de *P. volubilis* L., A) Flores pistiladas (femeninas) de *P. volubilis* L.; B) Flor pistilada de planta estéril de *P. volubilis* L., sumergida en peróxido de hidrógeno 30%; C) Flor pistilada de planta control de *P. volubilis* L., sumergida en peróxido de hidrógeno 30%. La flecha roja muestra un estigma de flor de *P. volubilis* L., de color amarillento lo que indica que ya ha pasado la antesis el cual no serviría para la prueba de receptividad, en cambio la flecha azul señala a una flor blanquecina en el mejor momento de la antesis.

La aplicación de peróxido de hidrógeno a las flores se realizó a aquellas que presentaban un color blanquecino, en las mañana entre 6:30 a 7:30 donde la flor femenina está con el estigma en un punto muy receptivo. (Cachique, 2006). Se introdujo la flor pistilada en el micro tubo que contenía peróxido de hidrógeno al 30% en la planta control y las plantas de RG y EMS (*Figura 18*). Como resultado se obtuvo el burbujeo en los estigmas de planta control (*Figura 18 C*) esto hace indicar que la planta es receptiva, en cambio los estigmas de las plantas de RG y EMS no presento burbujeo como se aprecia en la (*Figura 18 B*) indicando que no son receptivas y es por esto que no se produce fecundación, estos resultados corroboran Redei *et al.*, (1984) citado por Jabeen y Mirza (2004), mencionan que las mutaciones plastómicas producidas por efecto de agentes mutagénicos interfieren con el desarrollo del aparato fotosintético y esto puede causar esterilidad masculina y femenina.

## CONCLUSIONES

- Los agentes mutagénicos radiación gamma ( $Co_{60}$ ) y etil metanosulfonato, mostraron tener efectos sobre el comportamiento morfológico - reproductivo de plantas de *P. volubilis* L., “sacha inchi”; esto fue corroborado en las variables altura, días a la floración y número de frutos, donde se observó un efecto antagónico. En la variable número de flores pistiladas únicamente se observó un efecto en plantas tratadas con etil metanosulfonato, donde a mayor dosis mayor número de flores pistiladas por inflorescencia. Así mismo, existieron variables como número de ramas y número de semillas por fruto, donde no se observó diferencias significativas.
- En plantas tratadas con radiación gamma ( $Co_{60}$ ) se observó 01 planta que presentó todas sus flores pistiladas estériles (600 Gy), lo cual fue corroborado con el ensayo de receptividad estigmática; Así mismo se observó 01 planta que presentó una rama (quimérico) con reversión de sus flores estaminadas (600 Gy). En plantas tratadas con etil metanosulfonato se observó 01 planta con todos sus frutos deformes (1.5%), 01 planta con esterilidad de flores pistiladas (2.0%), y 01 planta que presentó una rama (quimérico) con reversión de sus flores estaminadas (1.0%).

## RECOMENDACIONES

- Realizar seguimiento a las plantas M1 del trabajo realizado, aquellas que presentaron características diferentes, frutos deformes y reversión floral, de esta manera se pueda conservar características favorables para la investigación.
- Es importante considerar en investigaciones posteriores la evaluación de otras variables, respecto a observación de raíces para ver si existe alguna planta que por efecto de los agentes mutagénicos, tenga resistencia a la presencia de nemátodos, así también como, porcentaje de clorofila, autopolinizaciones de plantas con características diferentes y análisis moleculares mediante marcadores AFLP.
- Los resultados obtenidos en el proyecto de investigación servirán de base para investigaciones futuras utilizando agentes mutagénicos, de esta manera favorecer la generación de nuevas características, sean en producción, resistencia a plagas y enfermedades o a problemas edafoclimáticos, no solo en el cultivo de *P. volubilis* L, “sacha inchi” si no en otras especies que se desee investigar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceituno, P. (2005). *El cultivo de sacha inchi. Boletín Técnico. Agencia adventista para el Desarrollo y Recursos Asistenciales-ADRA. Mision Nor Oriental. Moyobamba- Perú.*
- Akgün, I., y Tosun, M. (2004). Agricultura and cytological characteristics of M1 perennial rye (*Secale montanum*) as effected by the application of different doses of gamma rays. *Journal of Biological Sciences*, 7 (5): 827-833 – *Pakistan.*
- Albokari, M., Alzahrani, S. y Alsalman, A. (2012). Radio sensitivity of some local cultivars of wheat (*Triticum aestivum*) to gamma irradiation. *Bangladesh-India. J. Bot.* 41(1): 1-5.
- Aldaba, G. (2014). *Identificación de líneas mutantes de cebada (Hordeum vulgare L.) con valor agronómico y calidad en una población M8 de va la variedad UNA-La Molina 96 desarrollada con irradiación gamma.* . Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima, Perú. 154 p.: Tesis para optar por el título de ingeniero agrónomo.
- Álvarez, A., Chávez, L., Ramírez, R., et. al (2012). Indicadores fisiológicos en plantas de *Solanum lycopersicum L.*, procedente de semillas irradiadas con rayos X. *Bioteología Vegetal.* Bayamo, Granma-Cuba. 12(3): 173-177.
- Álvarez, A., Chávez, L., Ramírez, R., Estrada, W., Estrada, Y., Maldonado, A. (2013). *Efecto del tratamiento de semillas con bajas dosis de rayos X en plantas de pimiento (Capsicum annum L.).* Centro de Investigaciones, Servicios y Tecnologías Ambientales de Granma, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.: Bayamo, Granma-Cuba.
- Arévalo. (2005). *Informes de Resultados de investigación de Plukenetia volubilis L. “sacha inchi”.* Tarapoto - Perú.: Editorial “El porvenir”. Prisa Edición Perú. Pág. 89 – 95.
- Arévalo, G. (1989-1995). *Informes de Resultados de Investigación. Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E. “El Porvenir”.* San Martín - Perú: Pag. 20.
- Arfini, F., Antonioli, F. (2013). *Sacha inchi. Research about the conditions for recognition of geographical indications in Peru, CRED, Lima - Peru.*

- Argumedo, K. (2013). *Inducción de mutaciones en trigo (Triticum turgidum spp. durum) selección Arequipa empleando rayos gamma*. Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima - Perú. 57 p.
- Ashraf, M., Chemma, A., Rashid, M., y Qamar, Z. (2003). *Effect of gamma rays on M1 generation in Basmati rice*. Faisalabad - Pakistan. *J. Bot.*, 35(5): 791-795.
- Arisha, M., Liang, B., Muhammad, S., Gong Z., y Li D. (2014). Kill curve analysis and response of first generation (*Capsicum annum L.*) B12 cultivar to ethyl methane sulfonate. *Genetics and Molecular Research*. Pakistan. 13 (4): 10049-10061 (2014)
- Babaei, A., Nematzadeh, G., Avagyan, V. y Hashemi, H. (2010). Radio sensitivity studies of morpho-physiological characteristics in some Iranian rice varieties (*Oryza sativa L.*) in M1 generation. *Afr J Agric Res*. Yerevan - Armenia. 5(16): 2124-2130 p.
- Benjavad, A., Benjavad, A., y Behzad, S. (2012). Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *American Journal of Plant Sciences*. Shoushtar - Iran. 3,1661-1665.
- Bhat, R., Upadhyaya N., Chaudhury A., Raghavan F., Qiu H., Till, L. (2007). "Chemical- and Irradiation-Induced Mutants and Tilling," In: N. M. Upadhyaya, Ed., *Rice Functional Genomics: Challenges, Progress and Prospects*, Springer,. New York - EE.UU : pp. 148-180.
- Blazquez, M., Piñeiro, M y Valverde, F. (2011). *Bases Moleculres de la Floración, Biología Vegetal*. Investigacion y Ciencia. Sevilla - España.
- Brack, A. (1999). *Plukenetia volúbilis L. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú*. PNUD. Cuzco – Perú : Pág. 550.
- Cachique, D. (2006). *Estudio de la Biología y Reproductiva en el Cultivo de Sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) realizó en los campos experimentales de la Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, ubicados en el lote A-1 de la E.E.A. "El Porvenir "*. Tarapoto – Perú.
- Calzada, B. (1982). *Métodos Estadísticos para la Investigación*. Editorial Milagros S.A. Lima - Perú. 664 Págs.

- Castro, M. (2013). *Tolerancia del sacha inchi (Plukenetia volubilis L.), a nematodos fitoparásitos del género Meloydogyne spp, bajo condiciones de invernadero en la estación experimental agraria “El Porvenir”- Juan Guerra*. Universidad Nacional de San Martín. Facultad de Ciencias Agrarias - Carrera de Agronomía, Tarapoto – Perú: Tesis para aspirar al título de Ingeniero Agrónomo.
- Corazon, M., Castro, D., Chota, W., Rodríguez, A., Cachique, D., Manco, E., et al. (2009). *Caracterización genética de accesiones sanmartinenses del banco nacional de germoplasma de Sacha inchi Plukenetia volubilis L.* (E.E. El Porvenir – INIA). *Folia Amazónica*, Tarapoto – Perú. 18, 23–31 (text in Spanish).
- Dhamayanthi, K y Reddy, V. (2000). Cytogenetic effects of gamma rays and ethyl methane sulphonate in chilli pepper (*Capsicum annum L.*). *Cytologia*, China. 65: 129-133.
- Dhakshanamoorthy D, Selvaraj R, Chidambaram A. (2010) *Physical and chemical mutagenesis in Jatropha curcas L. to induce variability in seed germination, growth and yield traits*. Bucharest – Rumania. *Biol-Plant Biol* 55:113-125
- Dhillon, R., Saharan, M., Jattan, T., Rani, R., Sheokand, V., Dala y George, V. (2014). Molecular characterization of induced mutagenesis through gamma radiation using RAPD markers in *Jatropha curcas L.* *Academic journal*. Africa. Vol: 13(7), pp. 806 – 813.
- Donine, B., Kawai, T. y Micke, A. (1984). Spectrum of mutant characters utilized in developing improved cultivars. In: *Selection in Mutation Breeding*. International Atomic Energy Agency. Vienna - Austria. Proceedings, pp. 7-31
- DRASAM, D. (2016). *Insuficiente producción de sacha inchi para atender la demanda mundial*. San Martín – Perú.
- Fé, C., Romero, M., Ortiz, R., Ponce, M. (2000). Radiosensibilidad de semillas de soya a los rayos gamma  $^{60}\text{Co}$  Cultivos Tropicales, vol. 21, núm. 2, abril-junio, pp. 43-47 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana – Cuba.
- Fornara, F., de Montaigu y Coupland G. (2010). Snapshot; Control of Flowering in *Arabidopsis*. Germany, cell:550, 550 e 551- 552.
- Gallusser, J. (2005). *Identificación de Muestras Botánicas del Género Plukenetia (Euphorbiaceae)*. Informe Final de Consultoría Identificación de Material

- Promisorio, Recuperación Y Recolección de Germoplasma de Plukenetia volúbilis L. (Sacha Inchi)*. Tarapoto - Peru: editorial cordillera.
- Geraskin, S. (1995). Concept of biological effect of low dose radiation on cells. *Radiation Biology Radioecology*. 35(5): 571-580.
- Greco, B., Tanzarella, G. Carrozzo, y Blanco A. (1984), *Callus induction and shoot regeneration in sunflower (Helianthus annuusL.)*. *Plant Science letter*, 36, Bari – Italy, pp. 73-77.
- Golenberg, E., West, N. (2013). Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. *Am. J. Bot.* Michigan – USA. 100, 1022–1037.
- Gomez, L., Eguiluz, A., y Falconi, J. (2010). *Mejoramiento genético de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) variedad Pasankalla empleando inducción de mutaciones*. Programa de Cereales y Granos Nativos. Lima - Perú. p.43.: Universidad Nacional Agraria. .
- Guerrero, A. (2006). *El Sacha Inchi -Investigaciones y Nociones Generales sobre la especie*. Universidad Nacional de San Martín -. Tarapoto - Perú: Pág. 10.
- Gutierrez, A., Santa Cruz, F., Cabrera, J., y Rodriguez, B. (2003). *Mejoramiento genético vegetal in Vitro. e-Gnosis*. Guadalajara - México: v 1 (1): 1-19.
- Hamaker, B., Valles, R., Gilman, *et al.* (1992). Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (*Plukenetia volubilis L.*), *Cereal Chem*. Tarapoto – Perú, 69: 461–463.
- Hazen y Duclos. (1980). Guidelines for the establishment and operation of vegetable oil factors. . *Cornell University. E.E.U.U.*
- Ichikawa, S. (1973). *Apuntes mutagenesis. Rama de genetica*. Colegio de Post grados. Chopingo - Mexico.
- IIAP. (2009). *Estudio de viabilidad económica del cultivo de Plukenetia volubilis Linneo, Sacha inchi*. Departamento de San Martín. Iquitos - Perú.
- INIA, I. (2006). *Resultados Consolidados de cosecha frutos de sachá inchi en el Departamento y Provincia de San Martín Distrito de Juan Guerra*. San Martín - Perú.: Editorial Cordillera. Edición III. Pág.15-22.

- Iqbal, J. (1969). Radiation induced growth abnormalities in vegetative shoot apices of *Capsicum annum L.* in relation to cellular damage. *Radiat. Bot.* Lahore - Pakistan, 9: 491-499.
- Jabeen, N., y Mirza, B. (2004). Ethyl Methane Sulfonate Induces Morphological Mutations in (*Capsicum annum*). *Department of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad – Pakistan.*
- Kearns y Inouye. (1993). *Mecanismos de Polinización y Receptividad de Estigma.* Departamento de Ciencias Exactas.UNESP. Morelos - México: Pág. 204- 206.
- Kiong, A., Pick, A., Lai, S y Harun, A. (2008). Physiological responses of Orthosiphon stamineus plantlets to gamma irradiation. *Am-Eurasian J. Sustain. Agric.*2 Selangor - Malaysia (2):135-149.
- Kovacs, E., y Keressztes, A. (2002). *Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cell.* *Micron 33: 199-210.* . *Micron*, Budapest - Hungary. 3: 199-210.
- Konzak, CF., Nilan RA., Wagner J y Foster RJ. (1965). *Efficient chemical mutagenesis in the use of induced mutations in plant breeding.* *Radiation Botany (suppl.) Rome - Italy*, 5: 49-70.
- Kumari, R. (1996). Effectiveness and efficiency of physical, chemical, and physico-chemical mutagens in M2 generation of Vicia Faba L. var VH82-1. *Journal of Nuclear Agriculture and Biology.* Bhagalpur - India, 25:172- 175.
- Lagoda, P. (2012, Septiembre 03). Why radiation induced mutation? IAEA BULLETIN, 12, 53. Extraído el 22 de noviembre de 2012, desde [http://issuu.com/iaea\\_bulletin/docs/iaeabulletin\\_food?mode=window&backgroundColor=%23222222](http://issuu.com/iaea_bulletin/docs/iaeabulletin_food?mode=window&backgroundColor=%23222222).
- Leandro, P., Martin, T y Jose, J. (1990) Constitutive expression of rabadopsis Leafy or Apetala1 genes in citrus reduces their generation time. *Nature*, Valencia - Spain pp. 263-265.
- Lee, H y Lee, J. (2001). Mutagenic effectiveness and efficiency of EMS, gamma rays and their combination in rice. *Advances in Plant Sciences.*,12:203-205.
- León, A. (2016). *Determinación de la concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en Phaseolus vulgaris L. cultivar DOR 364.* Universidad Central “Marta Abreu” de

- Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias - Carrera de Ingeniería Agronómica, Santa Clara – Perú : Tesis para aspirar al título de Ingeniera Agrónoma.
- Ling, A., Chia, J., Hussein, S., Harun, A. (2008) Physiological responses of *Citrus sinensis* to gamma irradiation. *World Appl. Sci. J.* Selangor – Malaysia. 5, 12-19.
- Maluszynski, M., Ahloow Alia, B. (2001). Induced mutations-A new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, Netherlands, 118: 167-173 p.
- Manco, C. (2005). *Instituto Nacional de Investigación y Extensión agraria. Dirección de Investigación Agraria. Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología Estación Experimental Agraria “el Porvenir”*. Tarapoto - Perú: Pág. 8.
- Manco, E. (2006). *Cultivos sachá inchi. Situación y Avances del Cultivo de sachá inchi en el Perú. Estación Experimental el Porvenir*. San Martín - Perú: Editorial Cordillera. 2da Edición. Pág.11.
- Máximo, E. (2014). *Efecto de cinco niveles de Radiación Gamma en el cultivo de arroz (Oriza sativa L)*. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencia Agropecuarias. Babahoyo - Ecuador. Tesis para optar el título profesional de agronomía.
- Mendoza, E. (2014). *Plantas Transgénicas, beneficios y riesgos. Primera Edición*. ISBN: 978-1-304-85473-3. Lima – Perú, Pag. 20 – 2.
- Mendoza, D. (2017). *Evaluación morfológicos y fisiológicos de planta crecidas a partir de semillas de Sachá Inchi expuestas a diferentes concentraciones de Radiación Gamma y Metanosulfonato de Etilo (EMS), bajo condiciones de vivero*. Universidad Nacional de San Martín. Facultad de Ciencias Agrarias. Tarapoto - Perú. Tesis para optar el título profesional de ingeniero agrónomo.
- Micke, A. (1999). *Mutations in Plant Breeding. Breeding in Crop Plants: Mutations y In Vitro Mutation Breeding*; Bahar A. Siddiqui and Samiullah Khan (eds). . Ludhiana - India: 1-19 p.
- Montoya, M. (2007). *Energía Nuclear en el Perú*, Ed. Centro de preparación para la ciencia Tecnología CEPRECYT. Lima - Perú. 131 P
- Neufer, M., y Ficsor, G. (1963). Mutagenic Action of Ethyl Methanesulfonate in Maize. . *Science*, New York – USA, v 139(3561): 1296-1297.

- Novak, F., y Brunner, H. (1992). *Plant breeding: Induced mutation technology for crop improvement*. IAEA bulletin, 4: 25-33p.
- Osborn, M., Kevan, P., y Meredith, A. (1988). Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (*Cactaceae*) in southern Colorado. . *Plant. Syst. , Evol.* Colorado – USA, 159:139-144.
- Pabón, L. (2011). *Inducción de mutación mediante Radiación Gamma de (Passiflor edulis sim) var: edulis*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Trabajo de investigación para optar el título de Magister en Ciencias Biológicas - Línea Genética. Bogotá – Colombia.
- Pierce, B. (2002). *Genetics: a conceptual approach*. New York - EE.UU.: W.H. Freeman and Co. Page 475-482,484-491.
- Poehlman, J., y Allen, D. (2005). *Mejoramiento genético de las cosechas. Editorial*. México: Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores. Pág. 119.
- Poehlman, J. M. (1992). *Mejoramiento genético de las cosechas*, Limusa, México. DF. México 453 p.
- Porch, T. (2009), Blair MW, Lariguet, Patricia, GCPCE, Broughton WJ . Generation of a Mutant Population for TILLING Common Bean Genotype BAT 93. *J Amer Socfor Horti Sci*. Mayaguez - Puerto Rico,134: 348-355.
- Preuss, S., Britt, A. (2003). A DNA- damage – induced cell cycle checkpoint in arabidopsis. *Genetics*, California – USA,164, 323.
- Ralhan, M. (2007). *Caracterización fenológica de sachá inchi (Plukenetia volubilis L.)*. Trabajo de grado (Ingeniero agrónomo). Universidad de Virginia, USA, pág. 78.
- Qiantang Fua, L. (2014). Benzyladenine treatment promotes floral feminization and fruiting. *journal, Industrial Crops and Products* , Yunnan - China59 (2014) 295–298.
- Randoux, M., Jeauffre J., Thoroude, T., Vasseur, F., Hamama, L., Juchaux M., Sakr S. y Foucher, F. (2012). Giberellins Regulates The Transcription of the Continuous Flowering Regulator, Roksn a rase TFL 1 Homologue. *Journal of experimento, Botany*. Buenos Aires - Argentina, 63:6543 - 6554
- Reyes, V. (2004). *Evaluación de la variación genética en la generación M3 de Triticum turgidum ssp. durum var. Taray desarrollado mediante la aplicación de rayos*

- gamma*. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM): Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo. Lima - Perú. 91 p.
- Rodríguez, A., Corazon, M., Cachique, D., Mejía, K., Del Castillo, D., Renno, J.-F., *et al.* (2010). Diferenciación morfológica y por ISSR (inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía peruana: propuesta de una nueva especie. *Revista Perú Biológico*, Tarapoto – Perú, 17(3), 325–330 (text in Spanish).
- Roskov, Y., A. (20 de Junio de 2017). *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 29th May 2017*. Obtenido de Digital resource at Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.: [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col).
- Sevilla, R., y Holle, M. (2004). *Recursos Genéticos Vegetales*. . Lima - Perú.: Edición. Luis León Asociados S.R.L. 1ra Edición. Pág.257-261.
- Sikora, P., Chawade, A., Larsson , M., Olsson , J., y Olsson, O. (2011). Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics and breeding. *Int. J. Plant Genom., Article ID 314829.*, Göteborg – Sweden, Pag. 13.
- Soraluz, L. (2015). “*Inducción de Mutaciones en Centeno ( Secale cereale L.) Empleando Radiación Gamma*”. Universidad Nacional Agraria la Molina – Facultad de Agronomía. Lima – Perú. Tesis para obter el título de ingeniero agrónomo.
- Tasso, H., La Serna, H., Piccardo, R., Ventura, M., Córdova, S., y Castillo, S. (2013). Boletín técnico, cultivo de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Ministerio de Agricultura de Competitividad Agraria*. Lima – Perú.
- Tropa, S. (2010). *Inducción de mutaciones en quínoa*. Valdivia – Chile: Universidad Austral de Chile - Facultad de Ciencias Agrarias - Escuela de Agronomía.
- Van Staden, J. y Dickens, C. (1991), *In vitro induction of flowering and its relevance to micro propagation*. In: *Biotechnology Agriculture and Forestry, Vol. 17* (ed. Y.P.S. Balaj). Springer Verlag, Berlin - Heidelberg, pp. 85-115.
- Viccini, L., Carvalho, C. (2001). *Analysis of gamma radiation induced chromosome variations in maize (Zea mays L.)*. *Caryologia*. Brazil, 54: 319-327.
- Watkin, W. (1965). Principios de genética y mejora de las plantas. *Editorial Acribia*. Zaragoza - España. 527p.

- Zaka, R., Chenal, C., Misset, M., (2004). Effect of low doses of short-term gamma radiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*. *Science of the Total Environment*, 320,pp. 121-129. Rennes Cedex – France.
- Zapata, S. (2003). Posibilidades y potencialidad de la agroindustria en el Perú en base a la biodiversidad y los bionegocios. *Comité Biocomercio Perú*. Lima - Perú. 70 pp.

## ANEXOS

1A) Croquis de instalación de tratamientos inducidos con agentes físico químicos.

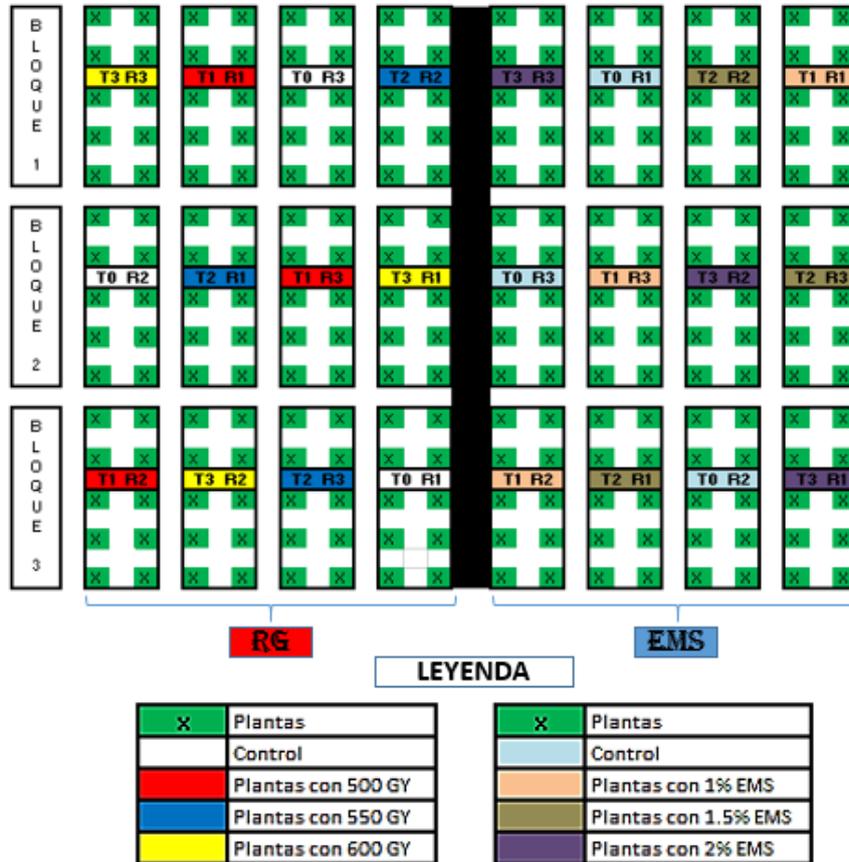


Figura 19. Croquis de distribución de la parcela.

1B) Selección de plantas de *Plukenetia volubilis* L., mutagenizadas en vivero e instalación en la parcela.



Figura 20. Plantas mutagenizadas de *P. volubilis* L seleccionadas en vivero.

1C) Instalación de plantas mutagenizadas de *Plukenetia volubilis* L., ubicada en la ciudad universitaria de la UNSM-T.



Figura 21. Instalación de plantas mutagenizadas de *P. volubilis* L., (A) Hoyado; (B) Selección de plantas mutagenizadas; (C) transporte de plantas mutagenizadas; (D) siembra; (E) Riego; (F) plantas mutagenizadas instaladas en campo definitivo.