



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú.](#)

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



Efecto de la radiación gamma y metanosulfonato de etilo (EMS) en la germinación y crecimiento de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), bajo condiciones de vivero en la región San Martín

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Bach. Deyvi Mendoza Tello

ASESOR:

Ing. María Emilia Ruíz Sánchez

Tarapoto – Perú

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



Efecto de la radiación gamma y metanosulfonato de etilo (EMS) en la germinación y crecimiento de semillas de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), bajo condiciones de vivero en la región San Martín

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

AUTOR:

Bach. Deyvi Mendoza Tello

Sustentado y aprobado ante el honorable jurado el día 11 de setiembre de 2017

.....
Dr. Winston Franz RÍOS RUÍZ
PRESIDENTE

.....
Ing. M.Sc. Manuel Santiago DORIA BOLAÑOS
SECRETARIO

.....
Blga. Dra. Yoni Meni RODRÍGUEZ ESPEJO
MIEMBRO

.....
Ing. María Emilia RUÍZ SÁNCHEZ
ASESOR

Declaración de Autenticidad

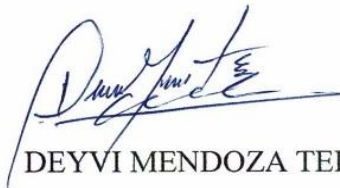
Yo, DEYVI MENDOZA TELLO, egresado(a) de la Facultad de CIENCIAS AGRARIAS de la Escuela Profesional de AGRONOMÍA, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 46686387, Domiciliado en: Jr. Minero N° 215 – CP. Santa Rosa de Cumbaza, San Martín, con la tesis titulada: “EFECTO DE LA RADIACIÓN GAMMA Y METANOSULFONATO DE ETILO (EMS) EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.), BAJO CONDICIONES DE VIVERO EN LA REGIÓN SAN MARTÍN”.

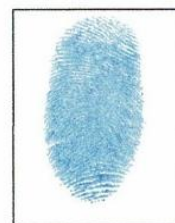
Declaro bajo juramento que:

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 investigada.

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 información de 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, 11 de Setiembre del 2017


DEYVI MENDOZA TELLO
DNI N° 46686387



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: MEUNDOZA TELLO DEYUI	
Código de alumno : 111110	Teléfono: 942279224
Correo electrónico : dantmeundoza90@gmail.com	DNI: 16686387

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

2. Datos Académicos

Facultad de: CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Profesional de: AGRONOMIA

3. Tipo de trabajo de investigación

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

4. Datos de trabajo de investigación

Título: EFECTOS DE LA RADIAÇÃO GAMMA Y ETIL METANOSULFONATO (EMS) EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE SEMILLA DE SACHA INCHI (Phytolacca velutina Desl.) BATA (CONDICIONES DE USO EN LA REGIÓN SAN MARTÍN)
Año de publicación: 2017

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(X)	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 indiquen 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 Nacional de Trabajos de Investigaciones 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:

18 / 01 / 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 abuelitos, Segundo Tello Sambrano y Luz Celis Leonor Amasifuen, por su apoyo y consejos que me brinda.

A mis padres Moisés Mendoza Ríos y Adith Tello Celis, por las muestras de cariño tan grande que siempre me brindan cada día y poder culminar con éxito este trabajo

A mi hijo Fredy Javier Mendoza Guzmán que es mi gran adoración e inspiración.

A mis hermanas, Karin Erika Mendoza Tello y Luz Clarita Mendoza Tello, quienes gracias a su apoyo y confianza depositada en mí y demostración siempre de ese espíritu de hermandad y cariño.

A mis amigos, compañeros y personal que labora en el laboratorio de LBG
de la Facultad de Agronomía de la UNSM- T por la enseñanza que me brindaron durante el transcurso de desarrollo de este trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTO

Durante el desarrollo de este trabajo de investigación hubo pequeños obstáculos, los cuales con la ayuda de personas cercanas a mí me brindaron su apoyo para que todo este trabajo de investigación se concrete con éxito.

Al **Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazón Guivin (CO – ASESOR)**, por darme la oportunidad de forma parte de su equipo, para el proyecto y por el asesoramiento que me brindó en la realización de mi proyecto de Tesis.

A los Docente de la U N S M - T, compañeros de trabajo en el LBG M y amigos que de alguna u otra forma me dieron ánimo y sobre todo me brindaron su apoyo para la realización de mi proyecto de investigación.

A la Universidad Nacional de San Martín por permitirme estudiar en sus aulas y poder culminar mi carrera universitaria con éxito. A mi asesora a la **Ing. María Emilia Ruíz Sánchez**, por la disposición de su tiempo para orientarme durante el desarrollo de la tesis.

Índice general

	Página
Dedicatoria.....	vi
Agradecimiento.....	vii
Resumen.....	xvi
Abstract.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.1. Antecedentes de investigación.....	3
1.2. Del cultivo de sachá inchi.....	4
1.3. Investigación agronómica en el cultivo:	10
1.4. Mutación genética.....	11
1.5. Mejoramiento genético en las plantas.....	12
1.6. Agentes mutagénico.....	13
1.7. Efectos mutagenicos comparativos entre el EMS y los rayos gamma	16
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1. Materiales	18
2.2. Métodos	19
2.3. Tratamiento de semillas con agentes mutagénicos fisico	22
2.4. Agente mutagénico químico	25
2.5 Variables evaluadas.....	28
2.6. Análisis estadístico	29
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1. Resultados.....	30
3.1.1. Evaluación de lo indicadores de crecimiento vegetativo en plantas de sachá inchi crecidas a partir de semillas tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (Gy).....	30
3.1.2 Evaluación de los indicadores de crecimiento vegetativo en planta de sachá inchi, crecidas a partir de semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS.....	38

3.1.3 Alteraciones morfológicas por efectos de radiación gamma	46
3.1.4 Alteraciones morfológicas por efectos de EMS	51
3.2 Discusión.	57
CONCLUSIONES.....	75
RECOMENDACIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS.....	86

Índice de tablas

	Página
Tabla 1: Comparativo de proteínas y ácidos grasos en Sacha inchi y otras oleaginosas	7
Tabla 2: Comparativo de ácido grasos saturado e insaturados en Sacha inchi y otras oleaginosas.	8
Tabla 3: Irradiación de semillas de sacha inchi.	23
Tabla 4: Tratamiento en estudio:	24
Tabla 5: Tratamiento y concentración utilizados en los ensayos de radiación	25
Tabla 6: Tratamientos y concentraciones utilizados las semillas con metanosulfonato de Etilo (EMS).	27
Tabla 7: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación en semillas de Sacha inchi irradiadas con rayos gamma (n=40)	31
Tabla 8: Análisis de varianza (ANVA) para el porcentaje de emergencia en semillas de Sacha inchi irradiadas con rayos gamma (n=100).	33
Tabla 9: Análisis de varianza para porcentaje de sobrevivencia de planta de Sacha inchi tratadas con radiación gamma (n=100).	34
Tabla 10: Análisis de varianza para altura de planta de Sacha inchi tratadas con radiación gamma (n=100).	35
Tabla 11: Análisis de varianza para el diámetro de tallo (mm) en planta de Sacha inchi tratadas con radiación gamma (n=100).	36
Tabla 12: Análisis de varianza para el número de hojas/planta de Sacha inchi tratadas con radiación gamma (n=100).	37
Tabla 13: Análisis de varianza para el porcentaje de emergencia en semilla de sacha inchi tratadas con EMS (n=150)	39
Tabla 14: Análisis de varianza para el porcentaje de sobrevivencia de semilla de sacha inchi (n=150).	40
Tabla 15: Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en planta de sacha inchi (n=150)	41
Tabla 16: Análisis de varianza para diámetro de tallo (mm) en planta de sacha inchi tratadas con EMS (n=150)	43

Tabla 17: Análisis de varianza para el número de hojas/plantas de Sacha inchi tratadas con EMS (n=150).	44
Tabla 18: Análisis varianza para la alteracion en la forma de hojas tratadas con radiación gamma.	46
Tabla 19: Análisis varianza para el porcentaje de sobrevivencia de semilla de Sacha inchi tratadas con EMS (n=150).	47
Tabla 20: Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en planta de Sacha inchi tratadas con EMS(n=150)	48
Tabla 21: Análisis de varianza para la lomgitud de raíz (cm) en planta de sacha inchi tratadas con radiación gamma (n=20).	49
Tabla 22: Análisis de varianza para el área foliar (cm ²) en planta de sacha inchi tratadas con radiación (n=50).	50
Tabla 23: Análisis de varianza para la alteración en forma de hojas de Sacha inchi tratadas con EMS(n=150).	51
Tabla 24: Análisis de varianza para la alteración en la coloración de hojas de Sacha inchi tratadas con EMS (n=150).	52
Tabla 25: Análisis de varianza para la alteración en el meristema apical de Sacha inchi tratadas con EMS (n=150).	53
Tabla 26: Análisis de varianza para la longitud de raíz en planta de Sacha inchi generadas en semillas con EMS (n= 30)	54
Tabla 27: Análisis de varianza para el área foliar (cm ²) en planta de Sacha inchi tratadas con EMS (n=30)	55

Índice de figuras

	Página
Figura 1: Principales zonas de producción de sachá inchi en la Región San Martín.	9
Figura 2: Zarandeo de tierra agrícola para la eliminación de piedras y raíces.	20
Figura 3: Llenado de bolsas con sustrato zarandeado.	20
Figura 4: Selección de semillas con característica homogéneas (tamaño, forma y color).	21
Figura 5: Desinfección de semillas homogéneas con hipoclorito de sodio (0,5%).	21
Figura 6: Semillas de sachá inchi empacadas en bolsas tipo ziploc de alta densidad para ser enviadas al (IPEN)	22
Figura 7: Germinación de semillas tratadas con radiación gamma en cámara húmeda.	24
Figura 8: Siembra de semilla irradiada	25
Figura 9: Semillas tratadas con Tiosulfato de sodio en una cabina de flujo laminar.	26
Figura 10: Siembra de semillas de sachá inchi tratadas con EMS a diferentes concentración y tiempo de exposición.	27
Figura 11: Control Fitosanitario de plántula de sachá inchi en condiciones de vivero.	28
Figura 12: Germinación de semillas de sachá inchi tratadas con radiación gamma. Los gráficos muestra el % de variación de la germinación en días en los diferentes tratamientos (n=40).	30
Figura 13: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de germinación en semilla de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (n=40)	31
Figura 14: Emergencia de semilla de sachá inchi tratadas con radiación gamma. Los gráficos muestran el % de variación en días en las diferentes tratamientos, bajo condición de vivero (n=100).	32
Figura 15: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de emergencias en semillas de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).	33

Figura 16: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para porcentaje de sobrevivencia en plantas de sachá inchi tratadas con radiación gamma ($n=100$).	34
Figura 17: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para altura de planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma ($n=100$).	35
Figura 18: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro de tallo en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma ($n=100$).	36
Figura 19: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma ($n=100$).	37
Figura 20: Emergencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS ($n=150$).	46
Figura 21: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de emergencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS ($n=150$).	47
Figura 22: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de sobrevivencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS ($n=150$).	48
Figura 23: Efectos del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachá inchi ($n=150$).	49
Figura 24: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachá inchi ($n=150$).	50
Figura 25: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachá inchi ($n=150$).	42
Figura 26: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro de tallo en planta de sachá inchi tratadas con EMS ($n=150$).	393
Figura 27: Efecto del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable número de hojas/planta de sachá inchi tratadas con EMS ($n=150$).	404
Figura 28: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable número de hojas/plantas de sachá inchi ($n=150$).	415
Figura 29: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable de número de hojas/planta de sachá inchi ($n=150$).	425
Figura 30: Alteración en la forma de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentración de radiación gamma ($n=100$).	426
Figura 31: Alteraciones morfológicas en la coloración de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiaciones gamma ($n=10$).	47

Figura 32: Alteraciones morfológicas en el funcionamiento del tallo de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (n=100).	48
Figura 33: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para longitud de raíz en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=20).	49
Figura 34: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para área foliar (cm^2) en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=150).	50
Figura 35: Alteraciones en la forma de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=150)	51
Figura 36: Alteraciones morfológicas en la coloración de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=150).	52
Figura 37: Alteraciones morfológicas en el meristema apical de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=150).	53
Figura 38: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la longitud de raíz en planta de sachá inchi (n=30)	54
Figura 39: Efecto del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable área foliar (cm^2) de planta de sachá inchi (n=30).	55
Figura 40: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable área foliar (cm^2) de planta de sachá inchi (n=30).	56
Figura 41: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable área foliar (cm^2) de planta de sachá inchi (n=30).	56
Figura 42: Hojas clorótica por efecto de rayos gamma	85
Figura 43: Alteración morfológica a partir de diferentes dosis de rayos gamma en la imagen 2, 3 y 4.	86
Figura 44: Efecto de rayos gamas en diferentes partes del crecimiento vegetativo de la plántula de sachá inchi.	87
Figura 45: Hojas clorótica por efecto de EMS.	88
Figura 46: Efecto de EMS en la diferentes morfológica de la plántula de sachá inchi	90
Figura 47: Disminución de longitud de raíz en las diferentes dosis de rayos gamma.	90
Figura 48: Formas de hojas por efecto de rayos gamma en diferentes dosis.	91
Figura 49: Disminución de longitud de raíz en las diferentes dosis de EMS.	93

Figura 50: Formas de hojas por efecto de EMS en diferentes dosis.

94

Resumen

El trabajo de investigación, buscó generar variedades genéticas en el cultivo de sachá inchi resistentes a nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*), a través de lesiones genómicas, mediante la utilización de agentes mutagénicos físico con la fuente de energía de Radiación Gamma de Cobalto 60 (Gy) y químico, Metanosulfonato de etilo (EMS). Para esto es necesario evaluar los indicadores de crecimiento vegetativo y alteraciones morfológicas en planta de sachá inchi (M1) crecidas a partir de semillas tratadas con diferentes dosis de radiación gamma y EMS. Utilizando un DCA simple con 9 tratamientos, 8 concentración y un control sin irradiación (0; 500; 550; 600; 650; 700; 750; 800 y 900 Gy) y 2 repeticiones de 50 semillas. Para la siembra de semillas tratadas con EMS, se utilizó un diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3A x 5B, con concentración de (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 % de EMS) y con tres tiempos de exposición (10, 20, 30 h). En los indicadores de crecimiento el tratamiento testigo (0 Gy) mostró mejor resultado en altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. Donde la dosis de 500 Gy y 550 Gy generó mayor ganancia en; altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. Donde el tiempo expuesto a 10 h muestra que las concentración de 1,0; 1,5 y 2,0% de EMS, obtuvo alto promedio en altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. El tiempo expuesto de 20 y 30 h, a concentración de 0,5 % de EMS muestra una mayor altura de planta y mayor número de hojas. Las dosis de 500, 550, 600 y 700 Gy mostro alteraciones morfológicas en las variable; forma de hoja, coloración de hoja, funcionamiento de tallo y área foliar. El tiempo de exposición de 10 h, con una concentración de 1,5 y 2% de EMS mostró alteración en la variable; forma de hoja coloración de hoja y meristemo apical. El tiempo de exposición de 20 y 30 h, se observó alteraciones a partir de 0,5 y 2% de EMS en; área foliar, meristemo apical, forma y coloración de hoja.

Palabras claves: Mutación, Radiación gama (Gy), metanosulfonato de etilo (EMS), irradiación, semillas, sachá inchi.

Abstract

The present research work, sought to generate genetic varieties in the cultivation of sacha inchi knot nematode-resistant (*Meloidogyne incognita*) through genomic lesions, through the use of mutagenic agents with the energy source of Gamma Radiation from cobalt 60 (Gy) and chemical with the ethyl methanesulfonate (EMS). For this it is necessary to evaluate the indicators of vegetative growth and morphological alterations in sacha inchi plant (M1) grown from seed treated with different doses of gamma radiation and EMS. Using a simple 9 DCA 8 concentration treatments, and a control without irradiation (0; 500; 550; 600; 650; 700; 750; 800 and 900 Gy) and 2 replications of 50 seeds. For the sowing of seeds treated with EMS, we used a Completely Randomized Design (DCA) with factorial arrangement 3x 5B, with a concentration of (0.0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 % of SAL) and with three times of exposure (10, 20, 30 h). In the growth indicators the control treatment (0 Gy) showed better result in plant height, stalk diameter and number of leaves. Where the treatment of 500 Gy was that generated the most profit in; plant height, stalk diameter and number of leaves. Where the time exposed to 10 h shows that the concentration of 1.0; 1.5 and 2.0% of EMS, obtained high average plant height, stalk diameter and number of leaves. The time of 20 and 30 h, a concentration of 0.5 % of EMS shows a greater plant height and number of leaves. Where the morphological alterations samples at a dose of 500, 550, 600 and 700 Gy showed a greater gain in the variable; leaf shape, color of leaf, stem and leaf area. Where to time of 10 h with a concentration of 1.5 and 2% of EMS shows more alteration in the variable; leaf shape coloring sheet and apical meristem. The exposure time of 20 and 30 h, alterations was observed from 0.5 and 2% of EMS in; foliar area, apical meristem, shape and leaf color.

Keyword: Mutation, Gamma radiation, Ethyl methanesulfonate, irradiation, seeds, Sacchi Inchi



INTRODUCCIÓN

Plukenetia volubilis L., es una especie de la familia Euphorbiaceae que comúnmente se conoce como maní del monte, sacha maní o maní del inca” (Manco, 2006). “Crece desde 100 hasta 2 040 m.s.n.m.m y desde años ancestrales se ha utilizado como alimento en las poblaciones rurales, nativas y mestizas” (Valles, 1995).

El sacha inchi es un cultivo de la diversidad biológica nativa de la Región Amazónica cuyo consumo se remonta a la época pre-Inca. En Perú, la Región San Martín es una de las principales zonas productoras, por lo que este cultivo representa una actividad que podría resultar prioritaria para su desarrollo económico y social.

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).

A la fecha todas las áreas sembradas con este cultivo no presentan un manejo agronómico validado, principalmente por 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).

Sin embargo, durante su proceso de domesticación ha encontrado problemas fitosanitarios como la susceptibilidad a nematodo del nudo (*Meloidogyne* sp), provocando grandes agallas sobre sus raíces. El efecto de agallamiento favorece una condición para que microorganismos oportunistas infecten tejidos de los vasos conductores, es así que se han registrado numerosas pérdidas de planta adultas de sacha inchi a través de una sintomatología de marchitamiento, probablemente provocadas por *Fusarium* sp.

“En la búsqueda por encontrar planta de sacha inchi tolerantes o resistentes a nematodo del nudo, se ha explorado su diversidad genética presente en la Región Amazónica del Perú” (Arévalo, 1989-1995; Castro, 2007). Sin embargo, los resultados

reportan un alto grado de susceptibilidad en toda la diversidad genética existente, ninguna siendo sostenible en campo de producción (Castro, 2007).

Promover lesiones genómicas que lleven a la generación de mutaciones puntuales y/o cromosómicas es un abordaje estratégico para ampliar la variabilidad genética existente sobre un genotipo, a través de la utilización de agentes mutagénico físico-químicos. Para esto, requiere ser necesario determinar la concentración efectiva para inducir lesiones genómicas que garanticen mutaciones estables posteriores. Es así que, el presente trabajo de investigación ha propuesto evaluar parámetros morfológicos y fisiológicos de planta crecidas a partir de semillas de sachá inchi expuestas a diferentes concentración de Radiación Gamma y Metanosulfonato de Etilo (EMS), bajo condiciones de vivero.

El trabajo de investigación tuvo como objetivo general de Evaluar los efectos de la Radiación Gamma y Metanosulfonato de Etilo (EMS) en los parámetros morfológicos y fisiológicos de plantas expuesta a diferentes concentraciones, crecidas a partir de semillas de Sachá inchi bajo condiciones de vivero.

Y como objetivos específicos: Evaluar indicadores de crecimiento vegetativo en planta de Sachá inchi (M1), en respuesta a diferentes concentraciones de exposición de Radiación Gamma (Gy) en semillas M0. Evaluar indicadores de crecimiento vegetativo en planta de Sachá inchi (M1), en respuesta a diferentes concentraciones de exposición de EMS en semillas M0 y Evaluar alteraciones morfológicas presentadas durante el crecimiento vegetativo de planta de sachá inchi, expuesta a diferentes concentración de radiación gamma y EMS.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Antecedentes de investigación

Hasta la actualidad se viene realizando numerosos trabajos de investigación con radiación gamma en distintos cultivos, la variabilidad genética en *Jatropha curcas* fue inducida por diferentes dosis (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 kR) de rayos gamma Dhillon *et al.* (2014). La radiación gamma indujo la precocidad en el descenso y las plantas establecieron flores antes que la del control, lo que requirió una duración más prolongada de 327 días para la floración.

Así mismo (Soraluz, 2015) empleo inducción de rayos gamma 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 Radiación Gamma (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 observo un efecto contrario disminuyendo la emergencia , altura de planta y sobrevivencia de las planta.

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).

1.2. Del cultivo de sachá inchi

1.2.1 Origen y distribución geográfica

Plukenetia voubilis, es un género que se encuentra en los trópicos, posee 19 especies entre sogas y lianas, este género incluye 12 especies neo tropicales, y 7 en el viejo mundo: una especie en Asia, tres en África y tres en Madagascar, (Gillespie, 1993; 2007).

Para el Perú se tienen reportadas la presencia de por lo menos seis especies de este género: (*Plukenetia brachybotrya*, *P. lorentensis*, *P. polyadenia*, *P. volubilis*, *P. huayllabambana* y *P. carolis-vegae*) todas estas especies fueron reportadas para los alrededores de Iquitos y amazonas (Gillespie, 1993; 2007, Mobot, 2007; Bussmann, R.W.; Tellez, C. & Glenn, A. 2009; Bussmann, Zambrano & Téllez, 2013).

En el Perú *P. volubilis* se encuentra en estado silvestre en diversos lugares de San Martín, Ucayali, Huánuco, Cusco, Amazonas, Loreto y Madre de Dios. En la Región San Martín se encuentra en toda la Cuenca del Huallaga, en la provincia de Lamas, en el valle del Sisa, Alto Mayo y Bajo Mayo, creciendo desde los 100 hasta los 2000 m.s.n.m (Manco, 2006). Esta especie es conocida de acuerdo al idioma o lugar con los siguientes nombres: "sachá inchi", "sachá inchi", 'sachá maní", "maní del monte", "maní del inca" o inca peanut", (Manco, 1996-2003); es un arbusto trepador o rastro silvestre y cultivado que se le encuentra en bordes de bosques secundarios, en cañaverales, sobre cercos vivos y como malezas en platanales y cultivos perennes (Brack, 1999). También fue cultivado en la costa peruana en la época prehispánica y se han encontrado semillas y representaciones en cerámicas (Brack, 1999).

En las áreas rurales de San Martín los pobladores utilizan las almendras de esta especie para su alimentación, ya sea cocida o tostada en la preparación de diversos platos como inchiapi, ají de sachá inchi, cutacho, mantequilla de sachá inchi, inchi cucho, tamal de sachá inchi, turrón de sachá inchi, etc. (Brack, 1999). Además, Soukup (1987), indica que las hojas son comestibles y que la semilla es muy nutritiva.

1.2.2 Clasificación taxonómica

La clasificación botánica (Gillespie, 2007) de la planta es la siguiente:

Reino	: Plantae
División	: Spermatophyta
Clase	: Dicotyledonae
Orden	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Género	: <i>Plukenetia</i>
Especie	: <i>volubilis</i> L.
Nombre científico	: <i>Plukenetia volubilis</i> L.
Nombre común	: Sacha Inchi, Maní del Monte

1.2.3 Morfológica del cultivo

- **Hojas.-** son 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 puntiaguda y la base es plana o semi arriñonada (Arévalo, 1989-1995).
- **fruto.-** es una cápsula, de 3,5 a 4,5 cm de diámetro, con 04 lóbulos aristados (tetralobados) dentro de los cuales se encuentran 4 semillas. Excepcionalmente, algunos ecotipos presentan cápsulas con 5 a 7 lóbulos (Manco, 2004).
- **Semilla.-** es ovalada, de color marrón oscuro, ligeramente abultado en el centro y aplastado hacia el borde, según los ecotipos, el diámetro fluctúa entre 1,3 y 2,1 cm (Sudirgeb-Iniea, 2006; Vela, 1995).
- **Flores.-** del sachá inchi presenta un alto porcentaje de 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 sachá inchi se observan 2 tipos de Flores:

Masculinas: Son pequeñas, blanquecinas, dispuestas en racimo.

Femeninas: Se encuentran en la base del racimo y ubicadas lateralmente de una a dos Flores (Cachique, 2006).

1.2.4 Fisiología

(Arévalo, 1990-1995), menciona que el sachu inchi es una planta trepadora, de abundantes hojas y ramas, alcanza la altura de la planta soporte, por lo tanto no es recomendable que ésta tenga una altura mayor de 2 metros para facilitar la cosecha. Si existe una suficiente humedad, la germinación se inicia aproximadamente a las dos semanas de realizada la siembra. Una semana después, aparece la segunda hoja verdadera y el tallo guía. (Manco, 2004), explica el período vegetativo en la siguiente manera:

- **En almácigo:**

- Días a germinación: 11 a 14 d.d.a.
- Días a emergencia de hojas verdaderas:
- 1er, par: Entre 16 y 20 d.d.a.
- 2do, par: Entre 28 y 42 d.d.a.
- 3er, par: Entre 45 y 59 d.d.a.

- **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 Ecología

Plukenetia volubilis L., es una planta nativa del trópico peruano, natural de bosque tropical húmedo y muy húmedo, existe en estado silvestre en la selva alta y baja de la Amazonia peruana, se encuentra también en los bordes de bosques secundarios, en cañaverales, sobre cercos vivos, y también se encuentra como malezas en platanales y cultivos perennes. Tolera las diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonia peruana; sin embargo, las temperaturas muy altas son desfavorables y ocasionan la caída de las flores y frutos pequeños, principalmente los recién formados (Brack, 1999; Anaya, 2003; Manco, 2006).

1.2.6 Composición química

Se tienen reportes de análisis realizados en la Universidad de Cornell (USA) que indican que la almendra de las semillas contiene 54,8 % de aceite y 28,52 % de proteína; además se señala que el aceite de sacha inchi contiene un alto contenido de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico) por lo que se le considera como un aceite de bajo contenido de colesterol (Hazen y Stoewesand, 1980).

Tabla 1

Comparativo de proteínas y ácidos grasos en saha inchi y otras oleaginosas

NUTRIEN TES (%)	Semillas de oleaginosas							
	Sacha Inchi	Soya	Maíz	Maní	Giras ol	algodón	Palma	Maíz
Proteínas	29	28		23	24	32,9		
Aceite total	54	19		45	48	16		
Palmítico	3,85	10,5	11	12	7,5	18,4	45	13
Esteárico	2,54	3,2	2	2,2	5,3	2,4	4	3
Oleico	8,28	22,3	28	43,3	29,3	18,7	40	71
Linoleico	36,8	54,5	58	36,8	57,9	57,7	10	10
Linolénico	48,61	8,3	1			0,5		1

Fuente: Hazen y Stoewesand, Cornell University, Ithaca – USA (1980)

Tabla 2
Comparativo de ácidos grasos saturado e insaturados en sacha inchi y otras oleaginosas

Ácidos grasos	Semilla				
	Sacha Inchi	Soya	Maní	Algodón	Girasol
Total (%)	54	19	45	16	48
Saturados					
C14:0 Mirístico	0	0	0	0	0
C16:0 Palmítico	4,5	10,5	12	18,7	7,5
C18:0 Esteárico	3,2	3,2	2,2	2,4	5,3
Insaturados					
C16:1 Palmitoleico	0	0	0,3	0,6	0
C18:1 Oleico	9,6	22,3	41,3	18,7	29,3
C18:2 Linoleico	6,8	54,5	36,8	57,5	57,9
C18:3 Linolénico	45,2	8,3	0	0,5	0
C20:1 Gadoleico	0	0	1,1	0	0

Fuente: Hamaker, *et al.*, Arkansas University – USA, 1992

1.2.7 Distribución geográfica del sacha inchi en la Región San Martín

El levantamiento catastral y topográfico realizado por la dirección de competitividad agraria de San Martín identifica un claro potencial en la región para la siembra de sacha inchi en aproximadamente veinte mil hectáreas, distribuidas en las distintas provincias. En la actualidad se desarrollan actividades vinculadas al cultivo de sacha inchi en casi toda la Región (Figura 1), tanto por asociaciones y comités de productores como por empresas transformadoras que se están instalando en San Martín. El rendimiento promedio de semilla es de una tonelada por hectáreas, de acuerdo con la Estación Experimental Agraria el Porvenir del INIA en Tarapoto, pero los rendimientos promedio reales en plantaciones en su tercer año de producción fluctúan entre 1, 5 y 3 toneladas por hectárea (Arévalo, 1996).

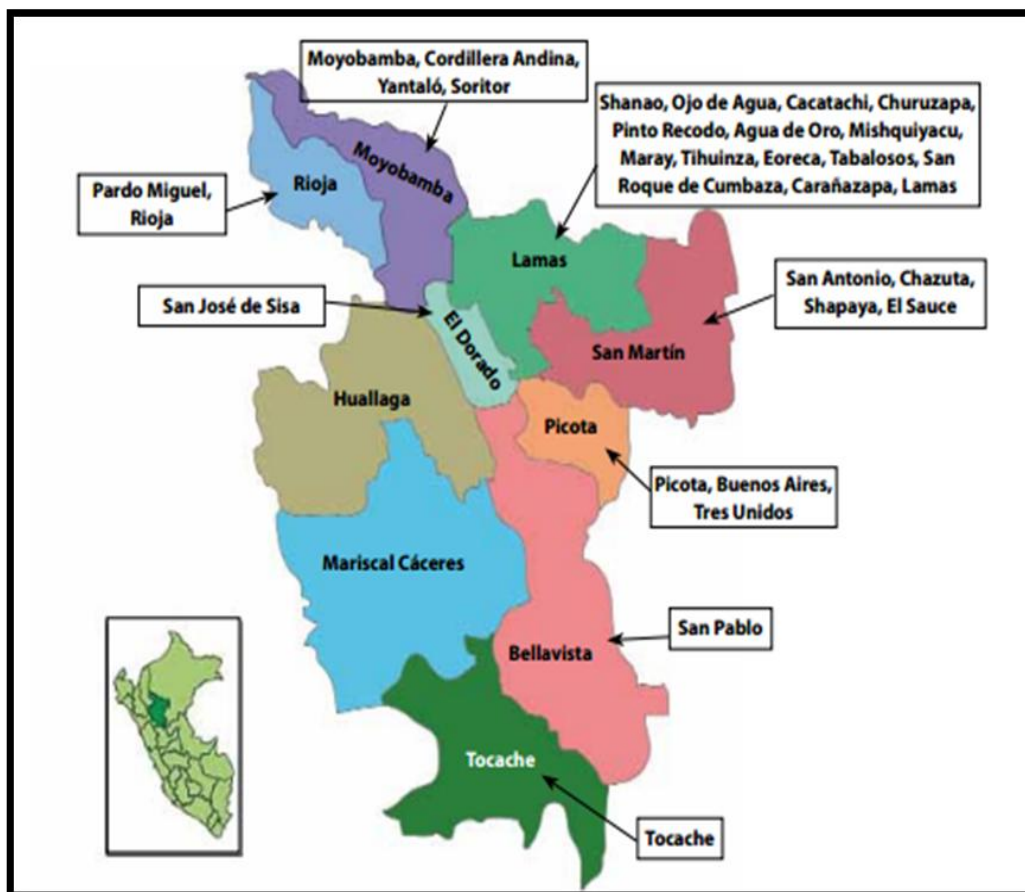


Figura 1. Principales zonas de producción de sachá inchi en la Región San Martín.

Fuente: encuesta pdrs-GTZ / sEco 2008.

1.2.8 Importancia del sachá inchi.

El sachá inchi representa un cultivo promisorio de gran importancia en la amazonia peruana, sus semillas contienen elevadas concentraciones de ácidos grasos insaturado; ácido graso linolénico (omega 3), ácido graso linoléico (omega 6) y ácido graso oleico (omega 9), (Hamaker *et al.*, 1992). Se ha observado que esta especie presenta una amplia variabilidad tanto en su morfología, como en su capacidad de producción por planta y contenidos de aceite (Valles, 1990; Rodríguez *et al.*, 2010). Sin embargo, a pesar de toda esta variabilidad genética no se ha reportado acciones con resistencias a nematodo de nudo *Meloidogyne* sp (Castro, 2007).

1.3 Investigación agronómica en el cultivo

El sachá inchi presenta una variabilidad muy amplia, observándose cultivares y ecotipos (población vegetal natural que por haberse desarrollado en unas condiciones naturales definidas, ostenta unas características diferenciales respecto a otras poblaciones de la misma especie) que difieren grandemente en área de follaje, tamaño y forma de sus hojas, semillas, así como en su capacidad de producción por planta y contenidos de aceite de grano; El INIA a través de la Estación Experimental El Porvenir, actualmente está recomendando los siguientes ecotipos: Pinto Recodo, Cumbaza, Tambo Yaguas y Río Putumayo, los cuales alcanzaron los más altos rendimientos de semilla en el primer año de evaluación, con tutores vivos, podas agresivas y bajo condiciones de suelo y climas no muy adecuados para el cultivo (Arévalo, 1990-1995).

A principios del año 2007 el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), a través del Programa de Ecosistemas Terrestres – PET, gracias al financiamiento del proyecto INCAGRO y al Presupuesto Operativo Institucional, inició las investigaciones relacionadas al cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) - en el Centro de Investigaciones Pucayacu - Bello Horizonte; actualmente, mantiene y evalúan 22 accesiones de sachá inchi, 14 de poblaciones naturales y 08 del Banco Nacional de Germoplasma, observando entre ellas amplia variabilidad morfológica en la forma, tamaño, presencia de manchas y nervaduras en las semillas evaluadas, cada una con características propias de su lugar de origen, dichos materiales vienen siendo sometidos aún proceso de selección principalmente por sus características sobresalientes en cuanto a rendimiento en grano seco, contenido de aceite y tolerancia al complejo nematodo-fusarium sp (Cachique *et al.*, 2007-2008).

Dada la importancia potencial de este cultivo, el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP-SAN MARTIN), continúa ejecutando investigaciones básicas en manejo agronómico, mejoramiento genético, manejo integrado de plagas, enfermedades y procesos industriales, como parte del proceso de domesticación, mediante técnicas modernas y convencionales a fin de seleccionar los materiales genéticos que presenten tolerancia al complejo Nemátodo-Hongo

con buenos rendimientos y altos contenidos de aceites, de manera que se puedan obtener genotipos superiores con cualidades estandarizadas. Es esta la razón por la cual se busca mejorar genéticamente el cultivo de sachá inchi mediante la técnica nuclear basada en la utilización de radiación gamma; ya que es una alternativa para generar variabilidad genética por la vía de mutaciones inducidas (Peso, 2014).

1.4 Mutación Genética

Las mutaciones génicas son alteraciones permanentes en el material genético. La mutación es un proceso por el cual los genes pasan de una forma alélica a otra, se pueden clasificar según su origen y según el tejido que afectan. Aquellas clasificadas según su origen son dos: las espontáneas (errores en la replicación o lesiones) y las inducidas (con agentes mutagénico físicos o químicos). Según el tejido que afectan, pueden ser somáticas o germinales. El uso de las mutaciones inducidas para mejoramiento es una forma de originar variabilidad genética. No se pueden generar nuevos genes sino nuevas alternativas para los existentes y no pueden ser dirigidas a un gen específico (Micke, 1999; Gutierrez *et al.*, 2003).

Una mutación es cualquier cambio heredable en el material hereditario que no se puede explicar mediante segregación o recombinación. Una alta tasa de mutación implica un mayor potencial de adaptación en el caso de un cambio ambiental, pues permite explorar más variantes genéticas, aumentando la probabilidad de obtener la variante adecuada necesaria para adaptarse al ambiente. A su vez, una alta tasa de mutación aumenta el número de mutaciones perjudiciales o deletéreas de los individuos, haciéndolos menos adaptados, y aumentando la probabilidad de extinción de la especie. Las mutaciones no tienen ninguna dirección respecto a la adaptación, son como un cambio al azar. Este cambio puede producir una falta de significado, y por eso la mayoría de las mutaciones son deletéreas. Pero a veces, ciertos cambios pueden introducir nuevos significados, permitiendo nuevas funciones (De Vries, 1901; 1903).

1.4.1 Nivel de mutaciones genética

De Robertis *et al.*, (2001), propone la clasificación de las mutaciones basada en la cantidad de material hereditario afectado por la mutación:

- **Mutación génica:** mutación que afecta a un solo gen. Las mutaciones génicas más comunes consisten en la sustitución de un nucleótido por otro, en la pérdida (selección) de uno o varios nucleótidos, o la inserción (intercalación) de uno o varios nucleótidos en la molécula del ADN. Cualquiera que sea el tipo de mutación, genera un cambio en la información contenida en el gen.
- **Mutación cromosómica:** mutación que afecta a un segmento cromosómico que incluye varios genes. Puede dar origen a cambios cromosómicos estructurales.
- **Mutación genómica:** mutación que afecta a cromosomas completos (por exceso o por defecto) o a juegos cromosómicos completos. Puede dar origen a cambios cromosómicos numéricos.

1.5 Mejoramiento genético de las plantas

Howell (1998), menciona que el objetivo principal del mejoramiento genético es incrementar la producción y la calidad de los productos agrícolas por unidad de superficie, en el menor tiempo, con el mínimo esfuerzo y al menor costo posible. Esto se logrará mediante la obtención de nuevas variedades o híbridos de alto potencial, es decir, que produzcan más grano, más forraje, más fruto, o más verduras en la menor área de terreno posible, y que se adapten a las necesidades del agricultor y consumidor.

En la actualidad, el mejoramiento genético mediante inducción de mutaciones utiliza básicamente dos tipos de agentes mutagénico: los químicos (EMS, MNH, etc.) y los físicos (rayos x, rayos gamma, etc.). En los párrafos siguientes se describe el uso de agentes mutagénico de tipo químico, debido a que fueron éstos los utilizados en este estudio. Los agentes mutagénico químicos son numerosos y continuamente se están incrementando. Sin embargo, para los propósitos de mejoramiento en plantas cultivadas sólo algunos pocos son realmente útiles. La mayoría de ellos pertenecen al grupo de los agentes alquilantes y dentro de ellos se pueden señalar los siguientes: etil metano sulfonato (EMS), sulfato de dietilo (dES) y los compuestos nitrosos como N-metil-N-nitrosourea (MNH) (Gutierrez *et al.*, 2003; Suarez, 2006).

1.6 Agentes mutagénico

El uso de agentes mutagénicos físicos y/o químicos son empleados para inducir mutaciones genómicas en planta, animales, microorganismos, etc. Particularmente en planta, caracteres agronómicos deseables y derivados de mutaciones genómicas son incorporados al programa de mejoramiento genético de cultivares, (Micke, 1999; Gutierrez *et al.*, 2003).

Muchos cultivares mutantes de planta propagadas por semilla, son de alto rendimiento. En China, cultivares exitosos basados en mutantes se siembran en millones de hectáreas (FAO/IAEA 1991). En Checoslovaquia, casi toda la cebada maltera es producida sobre la base de cultivares obtenidos por mutaciones, (FAO/IAEA 1991). En el Perú se ha reportado la obtención de mutantes de cebada precoces, con altura reducida, mayor número de granos y granos desnudos (Chávez, 1991), y la liberación de una variedad mutante: UNA La Molina 95 (Romero y Gómez, 1996).

El método de mejoramiento genético mediante mutaciones inducidas se basa en el principio de que se puede aumentar la proporción de mutaciones exponiendo planta o semillas a las radiaciones. Si bajo condiciones naturales ocurren mutaciones útiles, puede suponerse que también se pueden producir mutaciones favorables en forma experimental e inducida. Para tal caso las semillas son el material favorito y apropiado para la irradiación ya que en muchos experimentos de inducción de mutaciones y en el mejoramiento práctico se obtuvo buenos resultados como en algunas oleaginosas y cereales (IAEA, 1995).

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 la planta que permitan aumentar y mejorar su rendimiento (Novak y Brunner, 1992).

Las mutágenos químicos, que pueden reconocerse como alquilantes (etil metano sulfonato - EMS, metil metanosulfonato - MNH), debido a que transfieren grupos metilo o etilo a las bases nitrogenadas que entonces no podrán aparearse

normalmente con sus bases complementarias, generando mutaciones; o como intercalantes (bromuro de etidio) que son agentes que se intercalan entre las bases nitrogenadas alterando la estructura del ADN.

1.6.1 Metanosulfonato de Etilo (EMS)

El metanosulfonato de etilo es un compuesto químico con propiedades de mutágeno, teratógeno y carcinógeno que posee la fórmula química $C_3H_8O_3S$. En español, es más correcto nombrarlo como metano sulfonato de etilo (MSE), y en inglés ethyl methane sulphonate (EMS), dado que es un éster del ácido metano sulfónico. En genética se emplea el EMS como agente mutágeno, especialmente en técnicas de genética inversa como el TILLING (lesiones inducidas, localizadas y dirigidas en el genoma). El efecto del EMS en la mutagénesis frecuentemente provoca gran cantidad de mutaciones recesivas a través del genoma (Page *et al.*, 2002). Una de las ventajas de la mutación con EMS es que la frecuencia de las mutaciones es independiente del tamaño del genoma, además se pueden obtener una serie de mutaciones alélicas, exhibiendo una gama de fenotipos que pueden servir para los estudios de función genómica. Es un agente alquilante que provoca mutaciones puntuales, principalmente transiciones de GC a AT (Redei y Koncz, 1992). La frecuencia de mutación del EMS es variable, registrándose tasas que oscilan entre 1/300 y 1/30,000 mutaciones por locus, lo que, unido a otros factores, ha permitido estimar que para generar una mutación en un locus concreto con una probabilidad del 99% son necesarias entre 700 y 70,000 plantas mutagenizadas (M1), En la práctica, la mayoría de los escrutinios basados en una mutagénesis con este producto parten de 2,000 a 3,000 plantas M1 tras tratar las semillas de las que proceden durante 12 horas con 15-20 mM de EMS (Redei y Koncz, 1992; Page *et al.*, 2002).

- **Efecto del Metanosulfonato de Etilo (EMS)**

En experimentos con maíz se ha encontrado que el EMS produce mutaciones puntuales, es decir, cambios en los aminoácidos que constituyen un gen, (Smith, 1958). Al considerar la frecuencia y amplitud del espectro mutaciones que atribuyen mayor importancia a la velocidad de penetración el EMS en las semillas que a la velocidad de la hidrólisis (Konzack *et al.*, 1957). Encontraron que el EMS induce una alta frecuencia de mutantes promisorios en características agronómicas

del trigo, (Swamínathan *et al.*, 1964). En experimentos con maíz se ha encontrado que el EMS produce mutaciones puntuales, es decir, cambios en los aminoácidos que constituyen un gen, (Smith, 1958).

1.6.2 Radiación Gamma

La utilización de mutágenos físicos como la Radiación gamma (Co60) debe estar precedida de ensayos que permitan determinar la dosimetría adecuada, así como familiarizar al fitomejorador sobre los efectos que las radiaciones tienen sobre el material vegetal utilizado (Yrasema *et al.*, 2002).

Para estimar la concentración letal media (DL50) más apropiada a utilizar en los tratamientos con radiación, medida en Gray (Gy), equivalente a 1 J x Kg⁻¹, o equivalente a 100 Rads. Es un procedimiento basado en la radio sensibilidad del tejido del organismo, la cual es estimada a través de la respuesta fisiológica del material irradiado. Se debe determinar la concentración que causa un 50% de reducción del crecimiento vegetativo del material tratado (DL50) cuando es comparado al testigo en el primer ciclo vegetativo después del tratamiento. Correlaciones entre el estado fisiológico de las planta y su radio sensibilidad son determinadas por el contenido de agua del tejido (Predieri y Zimmerman, 2001). Las variaciones en unidades de concentración por tiempo frecuentemente tienen un efecto biológico en los resultados obtenidos. Los cambios genéticos causados por diferentes tasas de concentración muestran una relación lineal dependiente. Muchas aberraciones cromosómicas son inducidas por dos o más eventos ionizantes. Por estas razones la tasa de concentración debería ser cuidadosamente escogida y manejada (Novak y Brunner, 1992). Se informaron la concentración más alta de radiación gamma para ser inhibitorio (Radhadevi y Nayar, 1996; Kumari y Singh, 1996), mientras que concentración más bajas pueden ser estimuladoras.

Para (Babaei *et al.*, 2010), los rayos gamma 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.

- **Unidad de concentración de radiación**

El rad (acrónimo de radiation absorbed dose), es una unidad de concentración absorbida en términos de energía depositada en la materia. El rad se definió como una concentración absorbida de 100 ergios de energía por gramo de materia, (Stewart, 2010).

- **Efectos de la radiación**

Según (Genter y Brown, 1941). Reporta que a concentración elevada de radiación provocan esterilidad, enanismo y muerte de las planta.

En seis variedades de peral, irradiadas con 3,5 Gy de rayos gamma (γ), se observaron variantes con mayor porcentaje de russet, menor tamaño y cambio de la forma en algunos frutos y un retraso en la floración (Predieri y Zimmerman, 2001).

1.7 Efectos mutagénico comparativos entre el EMS y los rayos gamma

(Ehrenberg *et al.*, 1961), afirma que al comparar los efectos de diferentes tipos de radiaciones y mutagénico químicos, entre los que incluían rayos gamma y EMS a diferentes concentración, encontraron que el agente mutagénico más potente era el EMS. Este resultado se ha confirmado repetidas veces, por lo que se cree que en un futuro próximo en la inducción de mutaciones las radiaciones ionizantes serán sustituidas por sustancias químicas tales como el EMS. Se informó que en maíz, el EMS indujo tres veces más mutaciones que los rayos X (Amano, 1968). En guisantes se encontró siete veces más mutaciones cloróticas y cinco veces más mutaciones morfológicas que con rayos X (Sparrow *et al.*, 1958). Respecto a las mutaciones cloróticas, los rayos gamma producen más mutantes albinos y el EMS, mayor número de mutantes que varían en diferentes tonos de verde. Además, el EMS produce menos esterilidad con cerca de un 30 % de mutantes viables, mientras que con rayos X la esterilidad es mayor con 5 – 9 % de mutantes viables (Auerbach *et al.*, 1946). Posteriormente, se ha señalado utilizar concentraciones bajas de EMS con permanencia prolongada de las semillas de frijol en la solución. La mayor frecuencia de mutaciones se obtuvo con una solución de 0,08 M de EMS

durante 6 horas, lo que produjo 50 – 60 % de mutaciones, siendo la relación entre mutaciones cloróticas y morfológicas (Moh y Nanne, 1968).

Los rayos gamma, emitidos por cobalto radiactivo o radioisótopos, causan nuevos daños en células vegetales y suelen utilizarse para irradiar plantas completas o parte de estas, incluyendo el polen (Stewart, 2010).

Los rayos gamma por ser un tipo de radiación ionizante, tienen una alta capacidad de penetración y su acción letal en las células se mide usualmente como pérdida de la actividad mitótica (Ahnström, 1995).

Los rayos gamma, que se presentan espontáneamente y que son emitidos por ciertos productos químicos radioactivos, por ejemplo el Cobalto 60 y el radio, son rayos electromagnéticos de onda muy corta (Watkin, 1965). En general los rayos gamma tienen una longitud de onda más corta y por lo tanto poseen más energía por fotón que los rayos X.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

2.1.1 Materiales de campo

- ✓ Sustrato (tierra agrícola)
- ✓ Semilla botánica de sachu inchi (*Plukenetia volubilis* L.)
- ✓ Bolsa almaciguera de 1 kg
- ✓ Machete
- ✓ Palana
- ✓ Manguera

2.1.2 Materiales del laboratorio

- ✓ Papel toalla
- ✓ Punteras
- ✓ Gradillas
- ✓ Guantes quirúrgicos
- ✓ Vaso de Precipitación de 100 ml.
- ✓ Probeta de 50, 100 y 500 ml.
- ✓ Micropipetas de 1000 μ l.
- ✓ Matraz Erlenmeyer de 500 ml.

- **Reactivos**
 - ✓ Metanosulfonato de etil (EMS)
 - ✓ Tiosulfato de Sodio
 - ✓ Hipoclorito de sodio al 0,5%
 - ✓ Alcohol 96°

- **Equipos**
 - ✓ Estufa esterilizadora
 - ✓ Vernier digital
 - ✓ Balanza analítica
 - ✓ Cámara de flujo laminar
 - ✓ Cámara Fotográfica

2.2 Métodos

2.2.1 Ubicación del trabajo

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM) y vivero, ambos ambientes pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Martín. A continuación se detalla la ubicación política y geográfica de los ambientes:

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.

2.2.2 Conducción del experimento

a. Preparación de sustrato y llenado de bolsas almacigueras.

El sustrato utilizado fue tierra agrícola, de textura franco arcillosa de coloración negra. Todo el sustrato fue tamizado para eliminar raicillas, piedras y otras impurezas que podrían interferir en el desarrollo del sistema radicular de las plantas. Un total de 3 150 bolsas almacigueras de aproximadamente, 1 kg de sustrato/bolsa fueron llenadas. Para la organización de las bolsas en el vivero se construyó platabandas a base de madera donde fueron acondicionadas con un distanciamiento de 1 cm, entre bolsa y 20 cm, entre grupos de 50 bolsas. Un total de 63 grupos de 50 bolsas fueron acondicionados, cada grupo representa una repetición.



Figura 2. Zarandeo de tierra agrícola para la eliminación de piedras y raíces.
Foto: Deyvi. M. 2017.



Figura 3: Llenado de bolsas con sustrato zarandeado.
Foto: Deyvi. M. 2017.

b. Colecta de semillas

La colecta de semillas se realizó en la provincia de Lamas, sector Shanantina, Fundo Shanantina, propiedad del Sr. Alberto Sinarahua Sangama, con una extensión de 8 hectáreas de Sacha inchi. Para la colecta se seleccionaron cápsulas maduras, las cuales fueron secadas a temperaturas ambientes y decapsuladas manualmente. Un total de 10 kg de semilla fueron colectados para los ensayos posteriores.

c. Selección de semillas

Fueron seleccionadas semillas que presentaron características homogéneas en color (marrón oscuro), forma (ovalada) y tamaño (1,5 a 2,0 cm de diámetro y ligeramente abultada en el centro de la semilla). La homogeneidad en todas estas características es importantes para garantizar la uniformidad en la concentración

recibida en cada tratamiento. Para los ensayos de inducción mutagénica fueron seleccionadas un total de 5 000 semillas.



Figura 4: Selección de semillas con característica homogéneas (tamaño, forma y color).
Foto: Deyvi. M. 2017.

d. Desinfección de semillas

Las semillas de sachu inchi seleccionadas se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0,5% de cloro activo, por un periodo de 10 minutos. Posteriormente las semillas fueron enjuagadas con agua destilada, por 3 veces. Finalmente, las semillas fueron secadas a temperatura ambiente por un periodo de 3 horas.



Figura 5: Desinfección de semillas homogéneas con hipoclorito de sodio (0,5%).
Foto: Deyvi. M. 2017.

2.3 Tratamiento de semillas con agentes mutagénicos físico

Para el tratamiento de semillas con Radiación Gamma (Co_{60}) se realizó las siguientes actividades:

❖ Acondicionamiento de semillas

Las semillas seleccionadas con las características deseadas fueron acondicionadas en 9 bolsas de plástico tipo ziploc de alta densidad. En cada bolsa fueron colocadas 140 semillas, haciendo un total de 1 260 semillas. Las 9 muestras fueron etiquetadas para su correcta identificación y enviadas al Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN), para la radiación Gamma (Co_{60}) a diferentes concentraciones (Figura 6).



Figura 6: Semillas de sachá inchi empacadas en bolsas tipo ziploc de alta densidad para ser enviadas al (IPEN). Foto: Deyvi. M. 2017.

❖ Irradiación de semillas

Todo el proceso de irradiación de semillas se realizó en el (IPEN), para este proceso fue utilizado un Irradiador Tipo I, Marca Gammacell 220 Excel, Modelo C-198, Serie GS-401, teniendo como fuente de energía Cobalto 60.

Las muestras de semillas fueron irradiadas dentro de un cilindro cerrado de 20,47 cm de altura y 15,49 cm de diámetro a condiciones ambientales de 19°C de temperatura y 968 hPa de presión atmosférica.

Previo a la irradiación de las semillas fue realizada la dosimetría, proceso que consistió en estimar la concentración absorbida por la semilla como resultado a la

exposición de radiación ionizante, teniendo como resultado el empleo de 140 semillas por concentración (Requerimiento determinado por el IPEN).

Teniendo en cuenta que la irradiación se realiza en un solo proceso, fue estimada las concentraciones de cada tratamiento de acuerdo al tiempo de exposición; a mayor tiempo de exposición de energía radioactiva de las semillas, mayores fueron las concentraciones de irradiación recibida (Tabla 3). Una vez irradiadas las muestras fueron devueltas al Laboratorio de Biología y Genética Molecular de la Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto para sus posteriores evaluaciones bajo condiciones de laboratorio y vivero.

Tabla 3
Irradiación de semillas de sachá inchi

Muestra	Cantidad de semillas	Tiempo de irradiación (Segundo)	Concentración (Gy)
1	140	9,31	500
2	140	10,24	550
3	140	11,18	600
4	140	12,11	650
5	140	13,04	700
6	140	13,97	750
7	140	14,90	800
8	140	16,76	900

Fuente: IPEN, 2016.

❖ Germinación de semillas irradiadas en cámara húmeda

Una fracción de semillas irradiadas fue germinada en cámara húmeda, bajo condiciones de laboratorio. Para esto se utilizó 40 semillas de cada tratamiento, se acondicionaron en placas Petri conteniendo dos capas de papel filtro húmedo (cámara húmeda). Por cada tratamiento se utilizó 4 repeticiones (10 semillas/cámara húmeda) en un diseño completamente al azar (DCA). El porcentaje y días a la germinación de todos los tratamientos se registraron hasta los 13 días. Este proceso se realizó para los nueve tratamientos en estudio (Tabla 4).



Figura 7: Germinación de semillas tratadas con radiación gamma en cámara húmeda.
Foto: Deyvi. M. 2017.

Tabla 4
Tratamiento en estudio

Tratamientos	Concentración (Gy)	Semillas
T0	0	40
T1	500	40
T2	550	40
T3	600	40
T4	650	40
T5	700	40
T6	750	40
T7	800	40
T8	900	40

Fuente: LBGM

❖ Siembra de semillas tratadas con radiación gamma (Gy)

Antes de la siembra se realizó un riego pesado de todas las bolsas almacigueras hasta su capacidad de campo. Para la siembra se realizó un orificio de 1,5 cm, de profundidad en todas las bolsas almacigueras y se colocó una semilla por bolsa en posición vertical, con el hilum orientado hacia abajo, esto para facilitar el direccionamiento del meristemo radicular al germinar. Para la siembra se utilizó un Diseño Completamente al Azar simple (DCA), con 9 tratamientos (8 concentración de irradiación y un control sin irradiación) y 2 repeticiones de 50 semillas (Tabla 5). Para cada tratamiento se emplearon un total

de 100 semillas y la unidad experimental fue una semilla y el diseño experimental tuvo un total de 900 semillas.



Figura 8: Siembra de semilla irradiada. Foto: Deyvi. M. 2017

Tabla 5

Tratamientos y concentración utilizados en los ensayos de radiación

Tratamientos	Concentración (Gy)	Semillas (Dos repeticiones)
T0	0	100
T1	500	100
T2	550	100
T3	600	100
T4	650	100
T5	700	100
T6	750	100
T7	800	100
T8	900	100

Fuente: LBG M

2.4 Agente mutagénico químico

Para el tratamiento de semillas con metanosulfonato de Etilo se realizó las siguientes actividades:

➤ **Tratamiento de semillas con Metanosulfonato de Etilo (EMS)**

Para el tratamiento con (EMS), se utilizó 150 semillas por cada tratamiento, distribuido en 3 repeticiones de 50 semillas. Fue utilizado un arreglo factorial 3A x 5B, con 3 tiempos de exposición (10, 20 y 30 horas) y 5 concentraciones de EMS (0%, 0,5%, 1%, 1,5% y 2%), la interacción de los 2 factores dio origen a 15

tratamientos (Tabla 6). Una vez definido los tratamientos se colocaron las semillas desinfectadas en frascos Erlenmeyer de 500 ml, con las diferentes concentraciones de EMS y tiempos de exposición. Una vez concluido el tiempo de exposición fue descartándose secuencialmente la solución de EMS. Este proceso fue realizado en una cabina extractora de gases.

➤ **Tratamientos de semillas con Tiosulfato de sodio**

Las semillas previamente mutagenizadas fueron tratadas con una solución de Tiosulfato de sodio al 10%, con el objetivo de neutralizar la reacción mutagénico de cada uno de los tratamientos. Este tratamiento se realizó 2 veces por un periodo de 5 minutos cada uno. Finalmente las semillas fueron lavadas con agua destilada 2 veces por 5 minutos cada uno y un enjuague final de 2 horas (Figura 9).

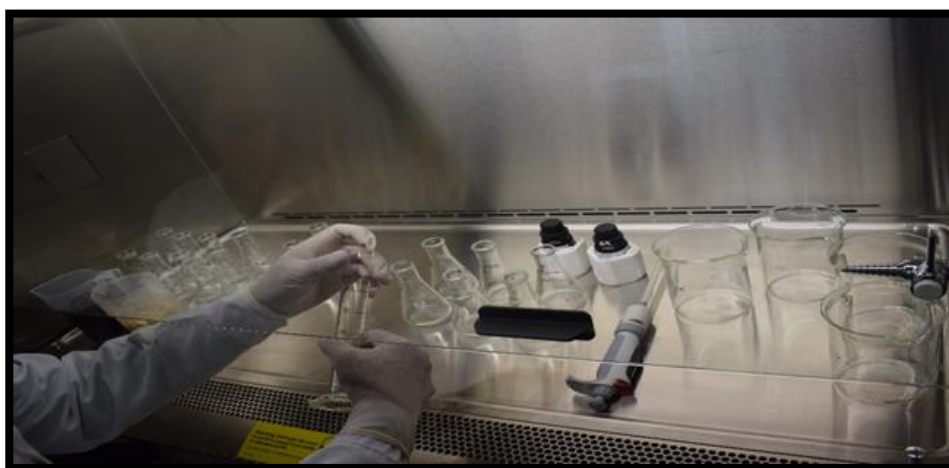


Figura 9: Semillas tratadas con Tiosulfato de sodio en una cabina de flujo laminar.
Foto: Deyvi. M. 2017.

➤ **Siembra de semillas tratadas con EMS**

Antes de la siembra se realizó un riego pesado de todas las bolsas almacigueras hasta su capacidad de campo. Para la siembra se realizó un orificio de 1,5 cm, de profundidad en todas las bolsas almacigueras y se colocó una semilla por bolsa en posición vertical, con el hilum orientado hacia abajo, esto para facilitar el direccionamiento del meristema radicular al germinar. Para la siembra se utilizó un diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 3A x 5B. La unidad experimental estuvo constituida por una semilla y el diseño experimental tuvo un total de 2 250 semillas.



Figura 10: Siembra se semillas de sachu inchi tratadas con EMS a diferentes concentración y tiempo de exposición. Foto: Deyvi. M. 2017.

Tabla 6

Tratamientos y concentraciones utilizados en las semillas con metanosulfonato de Etilo (EMS)

Tiempo de exposición	Concentration de EMS	Tratamientos
10 Horas	0,0%	T1
	0,5%	T2
	1,0%	T3
	1,5%	T4
	2,0 %	T5
20 Horas	0,0%	T6
	0,5%	T7
	1,0%	T8
	1,5%	T9
	2,0 %	T10
30 Horas	0,0%	T11
	0,5%	T12
	1,0%	T13
	1,5%	T14
	2,0 %	T15

Fuete: LBG M

➤ **Riego y control Fitosanitario de plantas mutagénicos**

Debido a la susceptibilidad de la planta de sachá inchi al ataque de *Fusarium* sp. Se realizó aplicaciones de fungicida químico para el control de hongos que causa la podredumbre radicular. Se utilizó el fungicida llamado comercialmente Metalaxil® a una concentración de 2 g/litro de agua. Las aplicaciones fueron en forma semanal con el objetivo de prevenir hongos que afecten el sistema radicular de las plantas tratadas con radiación gamma y EMS. El riego fue realizado con agua de grifo y la frecuencia de acuerdo a la necesidad del cultivo.



Figura 11: Control Fitosanitario de plántula de sachá inchi en condiciones de vivero.
Foto: Deyvi. M. 2017.

2.5 Variables evaluadas

2.5.1 Semillas tratadas con Radiación Gamma

a) En Cámara húmeda

Se evaluaron 40 semillas por cada tratamiento y se determinó: % de germinación, estas variables fueron evaluadas entre los 5 y 13 días después de la siembra (DDS).

b) En vivero

Se evaluaron 100 planta por cada tratamiento y se determinó: % de emergencia; estas variables fueron evaluadas entre los 10 y 34 DDS. Supervivencia de plantas, altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas/plantas y las alteraciones morfológicas, se registraron 30 días después de la emergencia (DDE). Finalmente, a los 31 DDE se realizó una evaluación

destruictiva de 20 planta por cada tratamiento (10 planta/repetición), registrándose variables como longitud de raíz y área foliar.

2.5.2 Semillas tratadas con Metanosulfonato Etilo (EMS)

Se evaluaron 150 planta por tratamientos y se determinó: % de emergencia; estas variables fueron evaluadas entre los 07 y 15 DDS. Sobrevivencia de plantas, altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas/planta y alteraciones morfológicas; se registraron a los 27 días después de la emergencia (DDE). Finalmente, a los 28 DDE, se realizó una evaluación destructiva de 30 planta por cada tratamiento (10/repetición) registrándose variables como longitud de raíz y área foliar.

2.6 Análisis estadístico

Previo al análisis estadístico (ANVA) los datos fueron sometieron al supuesto de normalidad para lo cual se utilizó la dócima de Shapiro Wilk (Diz, 2008). Los datos de peso fresco y seco fueron transformados a la $\sqrt{x+1}$ por provenir de mediciones de masa (Snedecor y Cochran, 1980); mientras que para los datos de la variable expresadas en porcentajes se utilizó la transformación de Bliss o transformación angular $\arcsen \sqrt{x\%}$ (Snedecor y Cochran, 1980). Posteriormente las medias de las variables estudiadas en el ensayo fueron sometidos a la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$ de probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos (Snedecor y Cochran, 1980). Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico InfoStat (versión 2012e; Córdoba, Argentina).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Evaluación de los indicadores de crecimiento vegetativo en plantas de sachu inchi crecidas a partir de semillas tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (Gy).

3.1.1 Los días de germinación de cada tratamiento en cámara húmeda

Se evaluaron a los 5 a 10 días después de la siembra (DDS). Los resultados muestran que el T0 presenta un mayor porcentaje de germinación (55%) al quinto DDS. En tanto, los T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 y T8, presentaron un mayor porcentaje de germinación (entre 45 – 55%) al sexto DDS. (Figura 12)

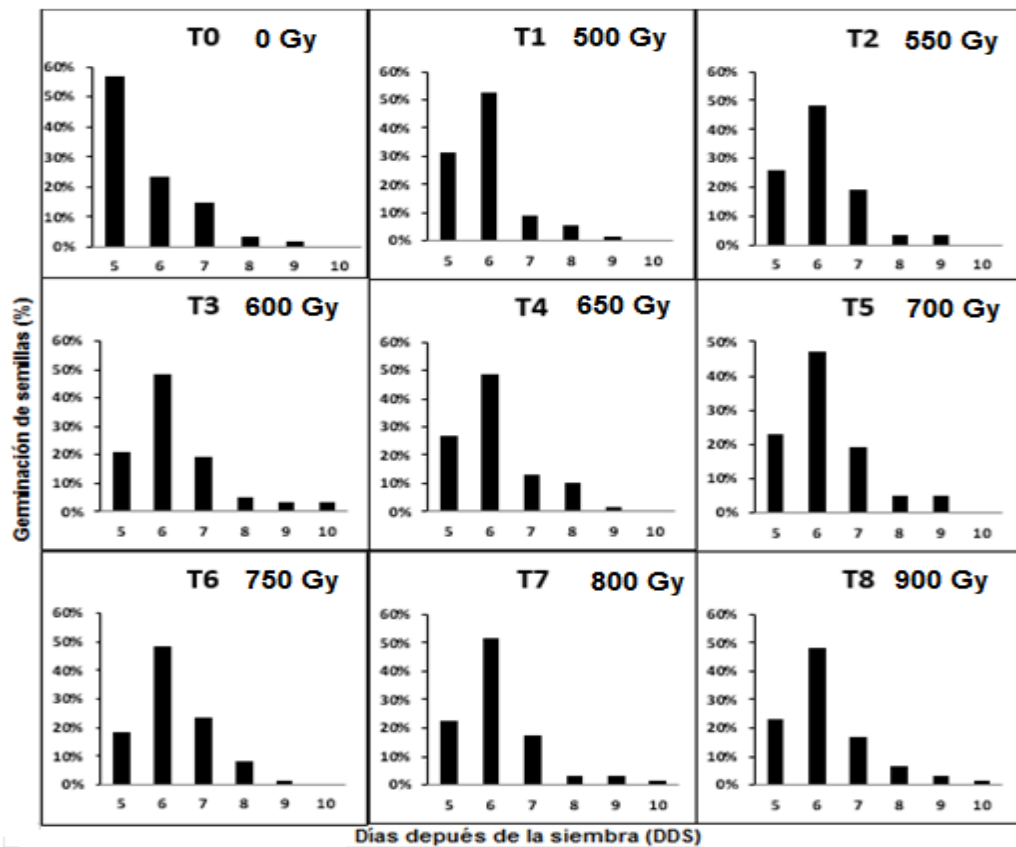


Figura 12: Germinación de semillas de sachu inchi tratadas con radiación gamma. Los gráficos muestra el % de variación de la germinación en días en los diferentes tratamientos (n=40).

3.1.2 Porcentaje de germinación

Para esta variable se tomaron la cantidad de número de semillas germinadas en cada tratamiento, esta fue evaluada entre los 5 y 10 DDS. El análisis de varianza

(ANVA) muestra que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 7); variando entre 95 a 100% de germinación con una media de 97.78% (Figura 13).

Tabla 7

Análisis de varianza para el porcentaje de germinación en semillas de sachu inchi irradiadas con rayos gamma (n=40)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	8	0,10	0,01	1,39	0,2274	Ns
Error	45	0,42	0,01			
Total	53	0,52				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 97,78%

C.V = 6,32%

R2 = 20%

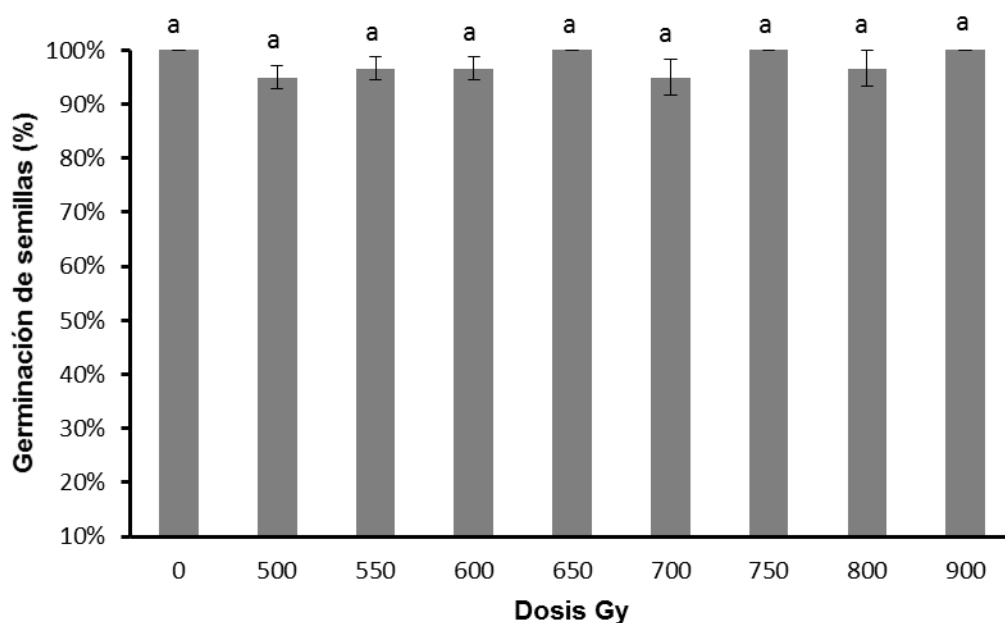


Figura 13: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de germinación en semillas de sachu inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (n=40).

3.1.3 Los días de emergencias de cada tratamiento en vivero

Se evaluaron a los 10 y 34 DDS. Los tratamientos T0, T1, T2, T3, T4, T5 y T6 muestran mayor porcentaje de emergencia a los 11, 12, 15, 15, 16, 16 y 18 DDS respectivamente. En tanto, los tratamientos T7 y T8 se observa variaciones en los días de emergencia de las semillas tratadas (Figura 14).

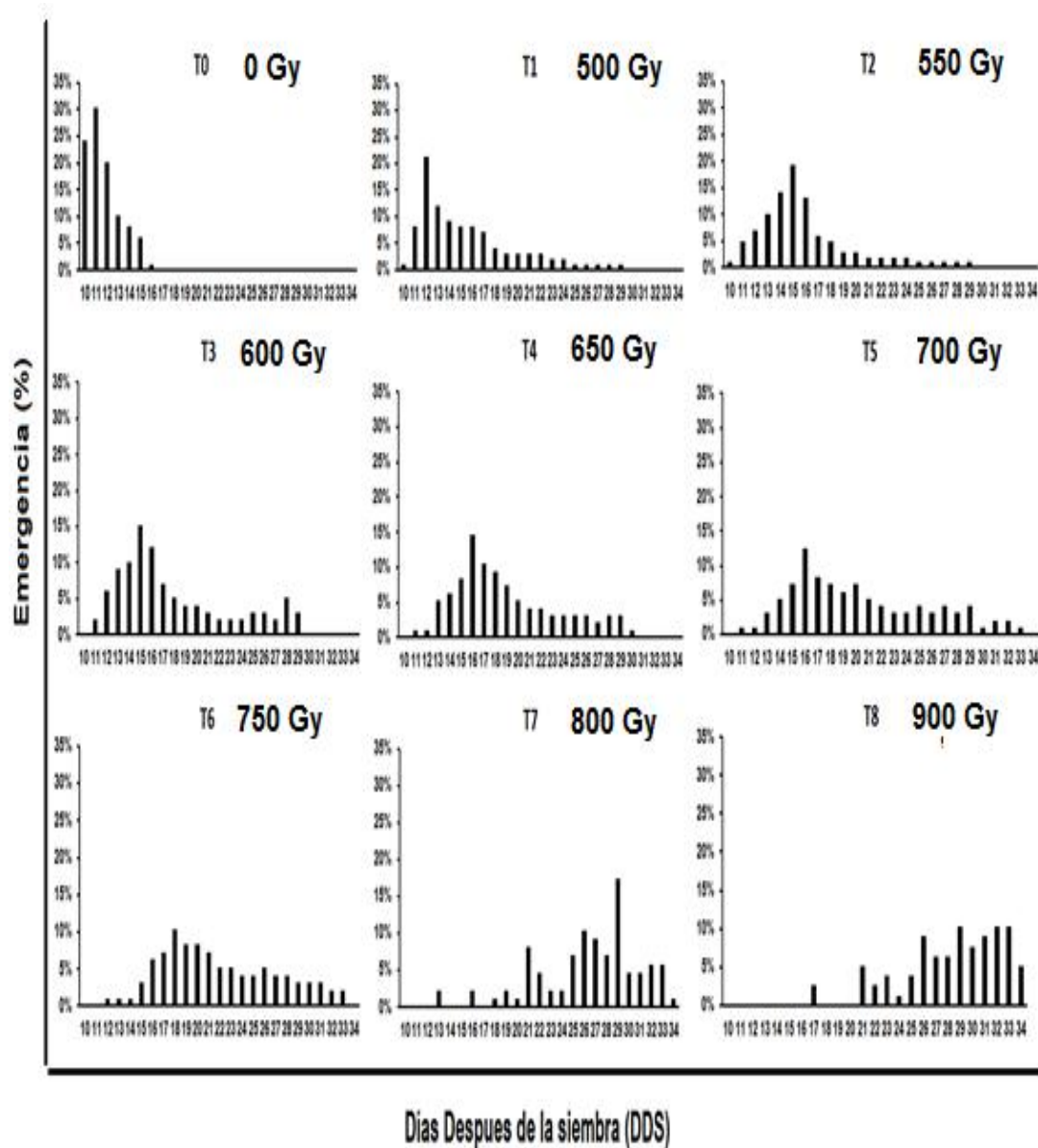


Figura 14: Emergencias de semillas de sachu inchi tratadas con radiación gamma. Los gráficos muestra el % de variación en días en las diferentes tratamientos, bajo condición de vivero (n=100).

3.1.4 Porcentaje de emergencia en condiciones de vivero

Para esta variable se tomaron la cantidad de número de semillas emergidas en cada tratamiento. Fue medida a los 34 DDS; el ANVA, muestra diferencia significativa entre los tratamientos en estudio, con una media de 94% (Tabla 8). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los tratamientos T0, T1, T2 y T3 no presentaron diferencias significativas entre ellos. El tratamiento T8 mostro diferencias significativas, siendo el que presento el menor porcentaje de emergencia (Figura 15).

Tabla 8

Análisis de varianza (ANVA) para el porcentaje de emergencia en semilla de sachá inchi irradiadas con rayos gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p- value	Sinf.
Tratamientos	8	0,37	0,05	4,6	0,0175	*
Error	9	0,09	0,01			
Total	17	0,46				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 94%

C.V = 7,28%

R2 = 80%

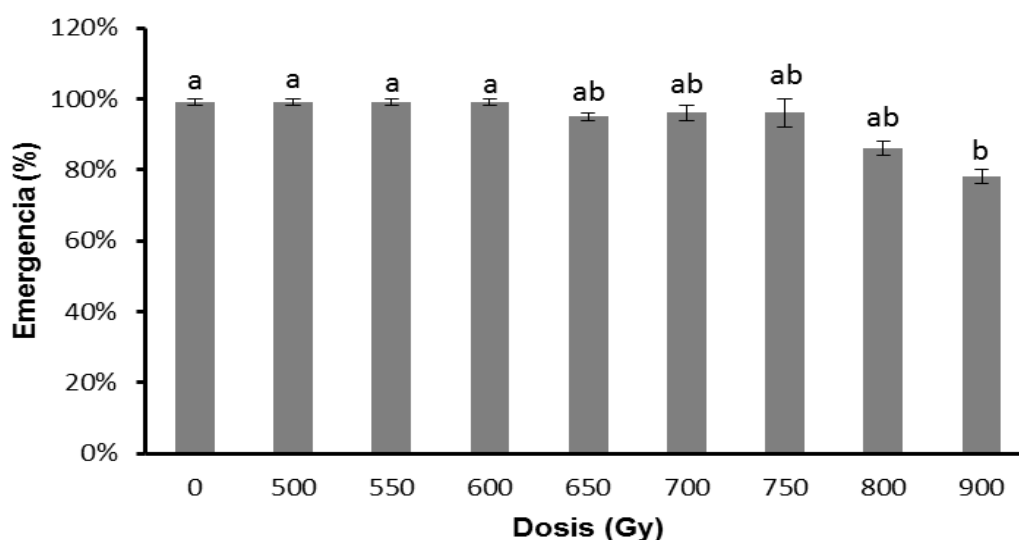


Figura 15: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de emergencias en semillas de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).

3.1.5 Sobrevivencia de planta

Esta variable fue medida a los 30 Días después de la emergencia (DDE); el ANVA muestra una diferencia significancia al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 9). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo T0 y los tratamientos con radiación. El porcentaje de sobrevivencia vario entre 98 a 13%, observándose una disminución en el porcentaje de sobrevivencia con el incremento de la concentración. En tanto los tratamientos T 7 y T8 no registraron plantas vivas (Figura 16).

Tabla 9

Análisis de varianza para porcentaje de sobrevivencia de planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p- value	Sinf.
Tratamientos	6	1,31	0,22	104,79	<0,0001	**
Error	7	0,01	2,1			
Total	13	1,33				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 98%

C.V = 14,39%

R2 = 0,99%

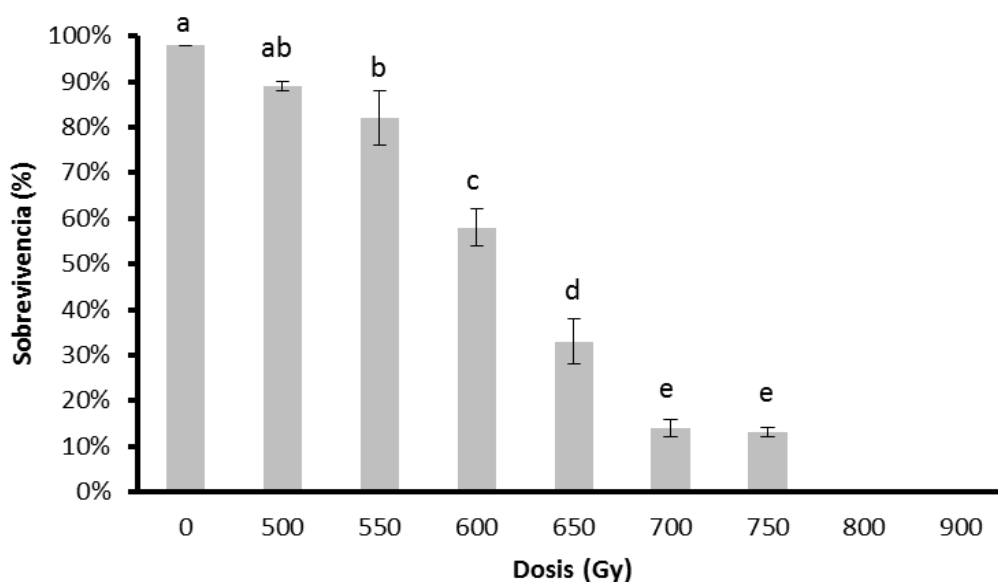


Figura 16: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para porcentaje de sobrevivencia en plantas de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).

3.1.6 Altura de planta (cm)

Esta variable fue evaluada los 30 DDE; el ANVA muestra una diferencia al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 10). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con radiación. La altura de planta en el testigo alcanzo los 11,95 cm, mientras que en los tratamientos con radiación vario entre 1,38 a 3,95 cm, observándose una disminución la altura de planta con el incremento de las concentraciones de EMS. Los tratamientos T4, T5 y T6 no mostraron diferencias significativas entre ellos, siendo los que presentaron los menos valores en la altura de planta. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en altura de planta (Figura 17).

Tabla 10

Análisis de varianza para altura de planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	163,22	27,3	136,64	<0,0001	**
Error	7	1,39	0,2			
Total	13	164,61				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 3,936 cm

C.V = 11,33%

R² = 99%

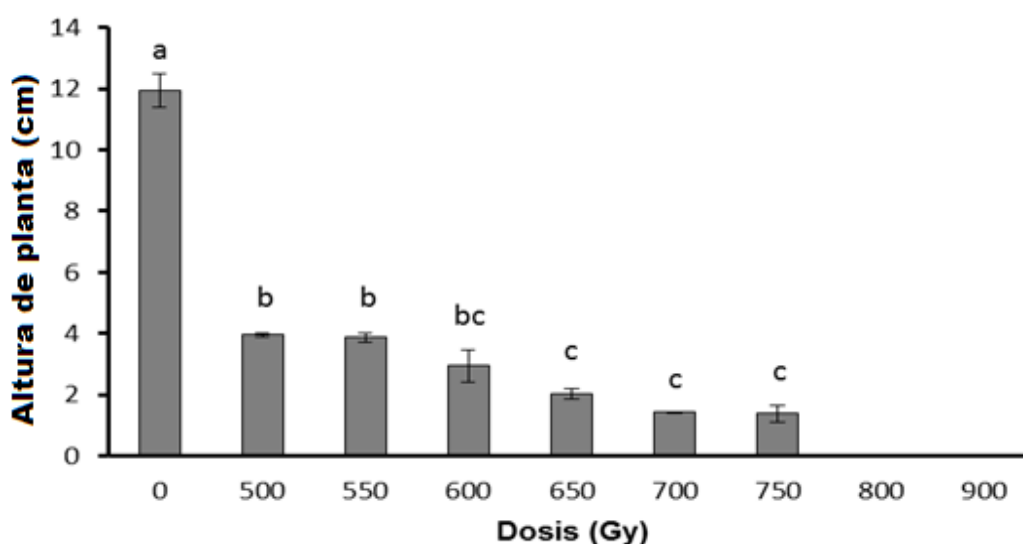


Figura 17: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para altura de planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).

3.1.7 Diámetro de tallo (mm)

Esta variable fue evaluada los 30 DDE; el ANVA muestra una diferencia significancia al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 11). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con radiación; el diámetro de tallo en el testigo alcanzo los 4,82 mm, mientras que los tratamientos con radiación vario entre 2,27 a 3,78 mm, observándose una disminución en el diámetro de tallo con el incremento de las concentración. Los tratamientos T3, T4, T5 y T6 no mostraron diferencias significativas entre ellos, siendo los que presentaron los menos valores al diámetro de tallo. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en el diámetro de tallo (Figura 18).

Tabla 11

Análisis de varianza para el diámetro de tallo (mm) en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	10,98	1,83	92,98	<0,0001	**
Error	7	0,14	0,02			
Total	13	11,12				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 3,059 mm

C.V = 4,59%

R² = 99%

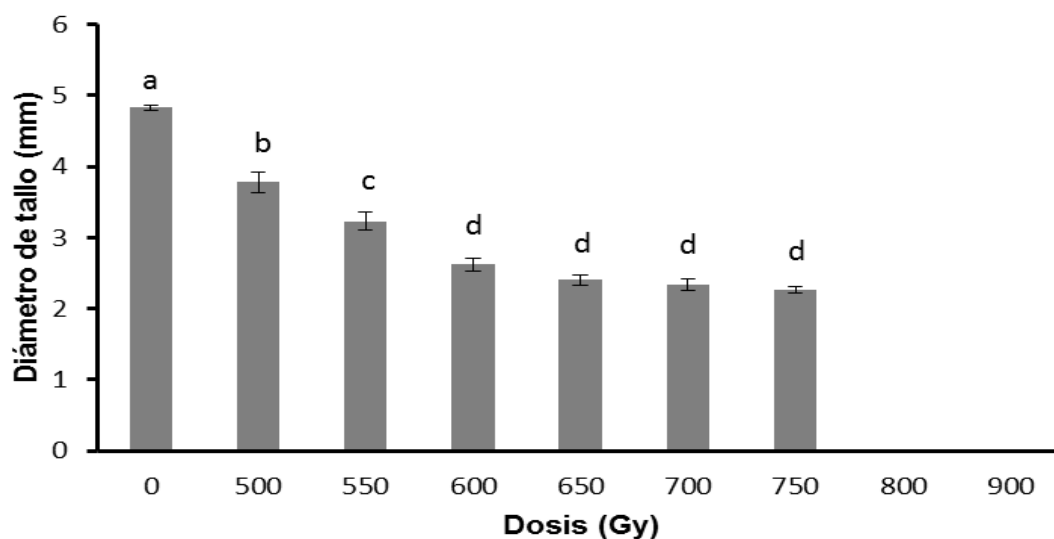


Figura 18: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro de tallo en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).

3.1.8 Número de hojas /plantas

Esta variable fue evaluada a los 30 DDE; el ANVA muestra una diferencia al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 12). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con radiación; el número de hojas/planta en el testigo alcanzo un promedio de 13,39. Mientras que los tratamientos con radiación varía entre 4,62 a 9,17 observándose una disminución en el número de hojas/planta con el incremento de las concentraciones. Los tratamientos T5 y T6 no mostraron diferencias significativas entre ellos, siendo los que presentaron los menos valores al número de hojas/planta. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en número de hojas (Figura 19).

Tabla 12

Análisis de varianza para el número de hojas/planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	119,29	19,88	23,29	0,0003	**
Error	7	5,98	0,85			
Total	13	125,27				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 7,226%

C.V = 12,79%

R2 = 95%

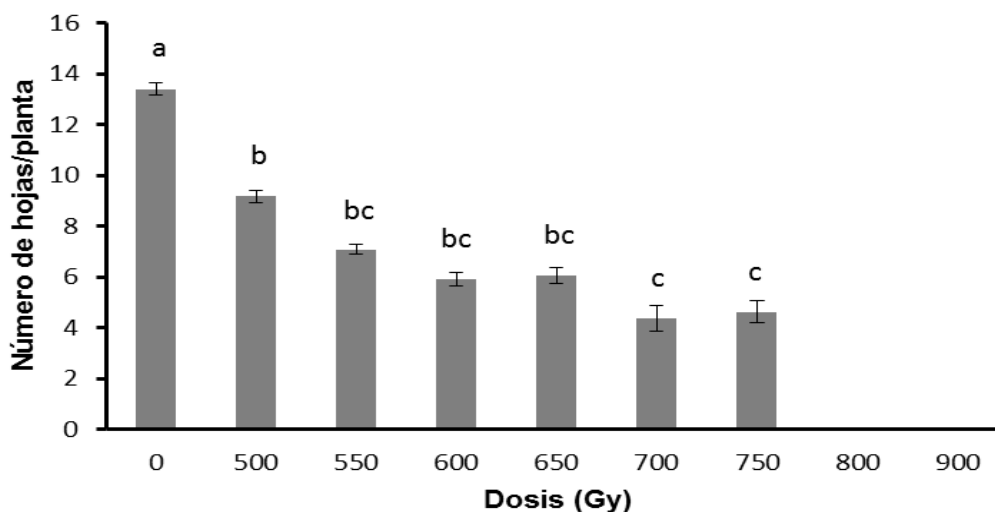


Figura 19: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el número de hojas en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=100).

3.2 Evaluación de los indicadores de crecimiento vegetativo en planta de Sacha inchi, crecidas a partir de semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS.

3.2.1 Los días de emergencia de cada tratamiento.

Esta variable fue evaluada entre los 7 a 15 días después de la siembra (DDS). Los resultados muestran que los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 y T12, presentaron un mayor porcentaje de emergencia al noveno DDS; los tratamientos T13 y T14 presentaron un mayor porcentaje de emergencia al décimo DDS. El Tratamiento T15 presento mayor porcentaje de emergencia al onceavo DDS (Figura 20).

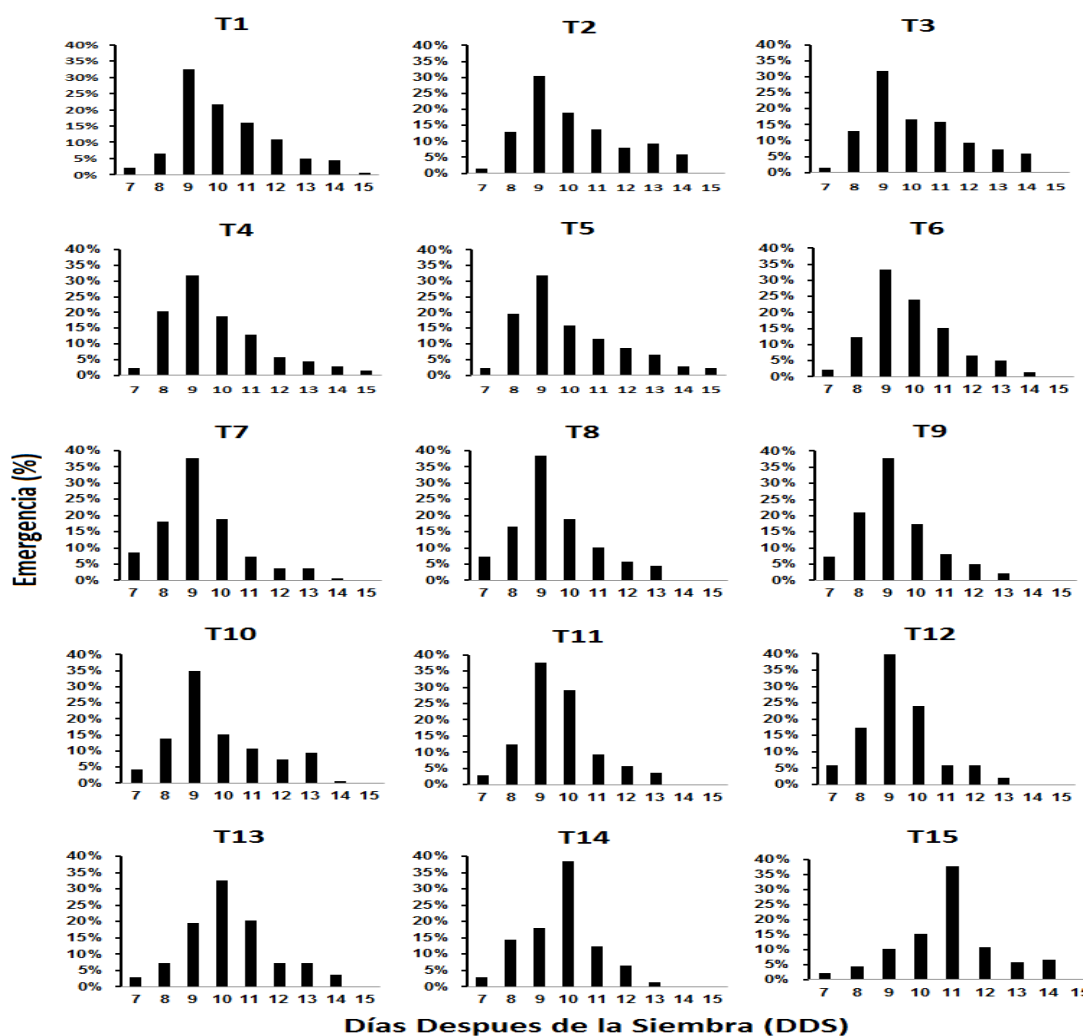


Figura 20: Emergencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS. Los gráficos muestran el % de variación de la emergencia en días en los diferentes tratamientos. (n=150).

3.2.2 Porcentaje de emergencias

Esta variable fue evaluada a los 15 DDS; el ANVA no muestra diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que no hubo diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos (Tabla 13).

Tabla 13

Análisis varianza para el porcentaje de emergencia en semilla de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	0,01	0,01	0,86	0,4346	ns
Factor B: Concentración	4	0,01	0,0032	0,48	0,7512	ns
Interacción AxB	8	0,02	0,0020	0,30	0,9616	ns
Error	30	0,2	0,01			
Total	44	0,24				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 91,29%

C.V = 5,94%

R2 = 17%

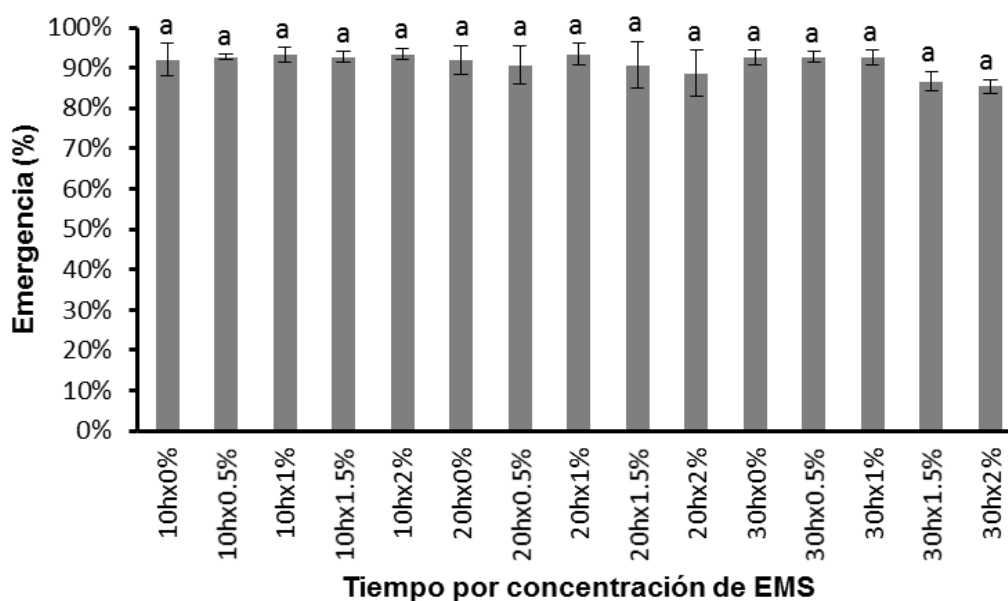


Figura 21: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el porcentaje de emergencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS (n=150).

3.2.3 Porcentaje de sobrevivencia

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA muestra diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que hubo diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos (Tabla 14).

Tabla 14

Análisis varianza para el porcentaje de sobrevivencia de semilla de sachá inchi (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	856,54	485,01	24,86	<0,0001	**
Factor B: Concentración	4	640,21	202,32	56,48	<0,0001	**
Interacción Ax B	8	431,48	11,20	2,56	0,0006	**
Error	30	278,82	8,11			
Total	44	2207,05				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 91,29%

C.V = 8,54%

R² = 78%

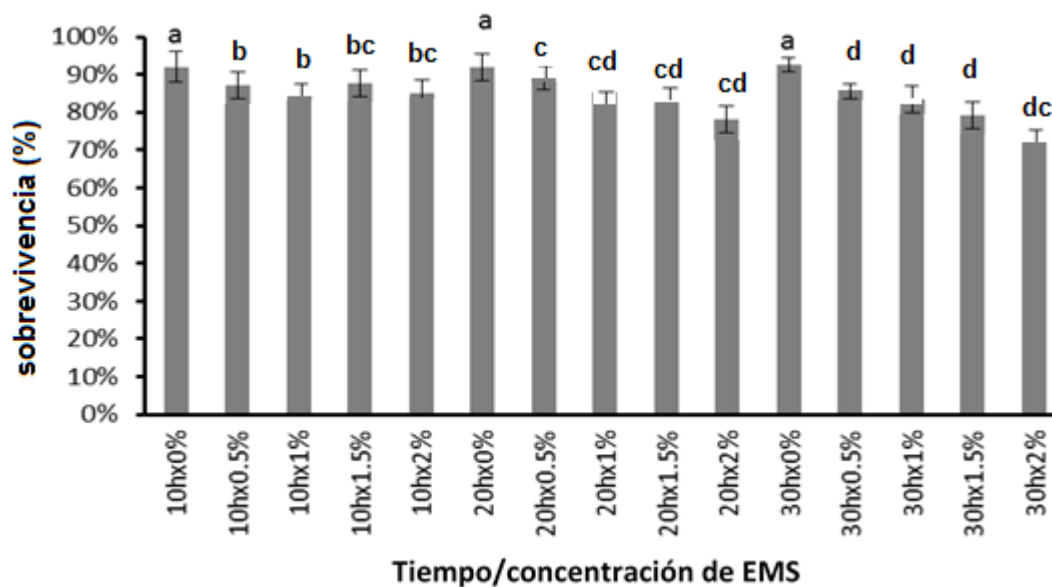


Figura 22: Prueba de Tukey (p<0,05) para el porcentaje de sobrevivencia de semillas de sachá inchi tratadas con EMS (n=150).

3.2.4 Altura de planta (cm)

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA muestra que existe una diferencia significativa al 99 % en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0%) y la interacción entre el Factor A x B, con una media de 32,03 cm (Tabla 15). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra la significancia en el Factor A, observándose que a medida que se incrementa el tiempo de exposición existe retardo en el crecimiento en la altura de planta (Figura 23). La significancia del Factor B, muestra que a medida que se incrementa la concentración de EMS también existe retardo en el crecimiento en la altura de planta (Figura 24). La significancia entre la interacción del factor A x B resalta que a medida que se incrementa la concentración y el tiempo de exposición, muestran efecto directo en el retardo del crecimiento a la altura de planta (Figura 25).

Tabla 15

Análisis de varianza para la altura de planta (cm) en planta de sachu inchi (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	926,51	464,75	54,36	<0,0001	**
Factor B: Concentración	4	634,28	158,57	18,55	<0,0001	**
Interacción AxB	8	318,48	39,81	4,66	0,0009	**
Error	30	256,51	8.55			
Total	44	2138,77				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 32,03 cm

C.V = 9,13%

R² = 88%

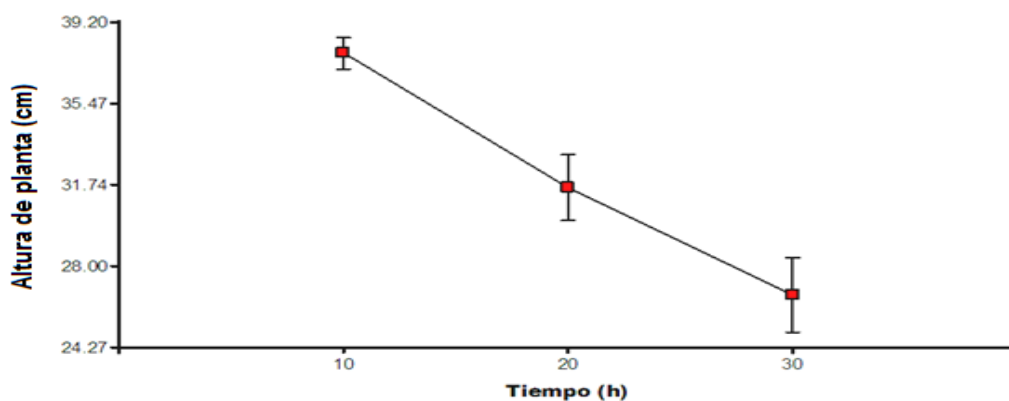


Figura 23: Efecto del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachu inchi (n=150).

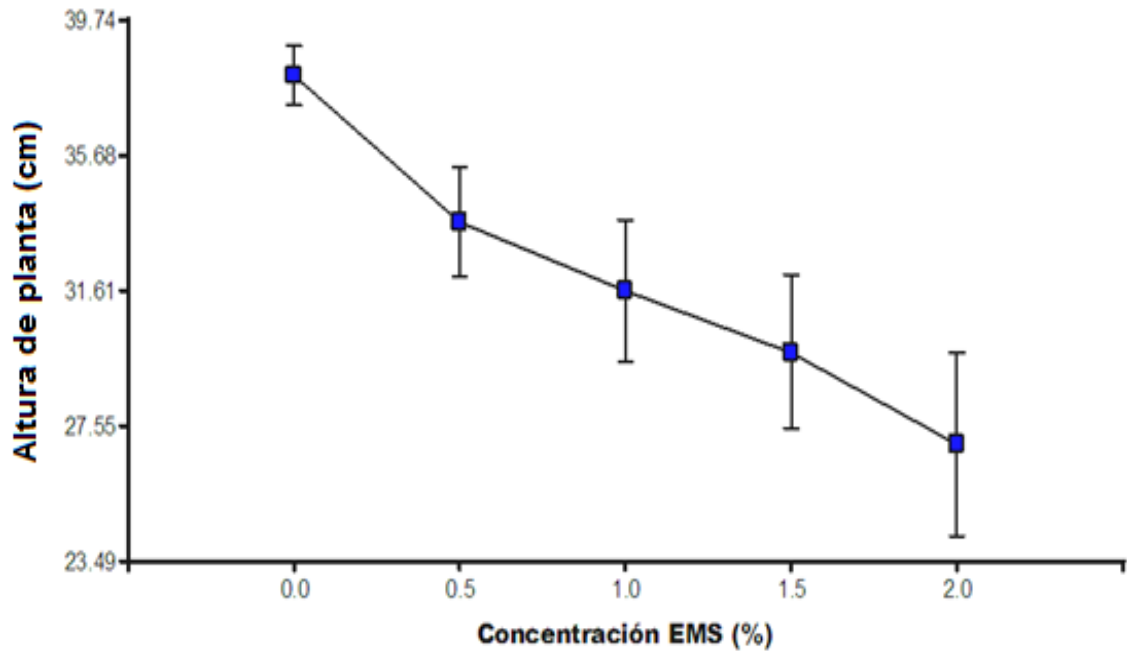


Figura 24: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachu inchi (n=150).

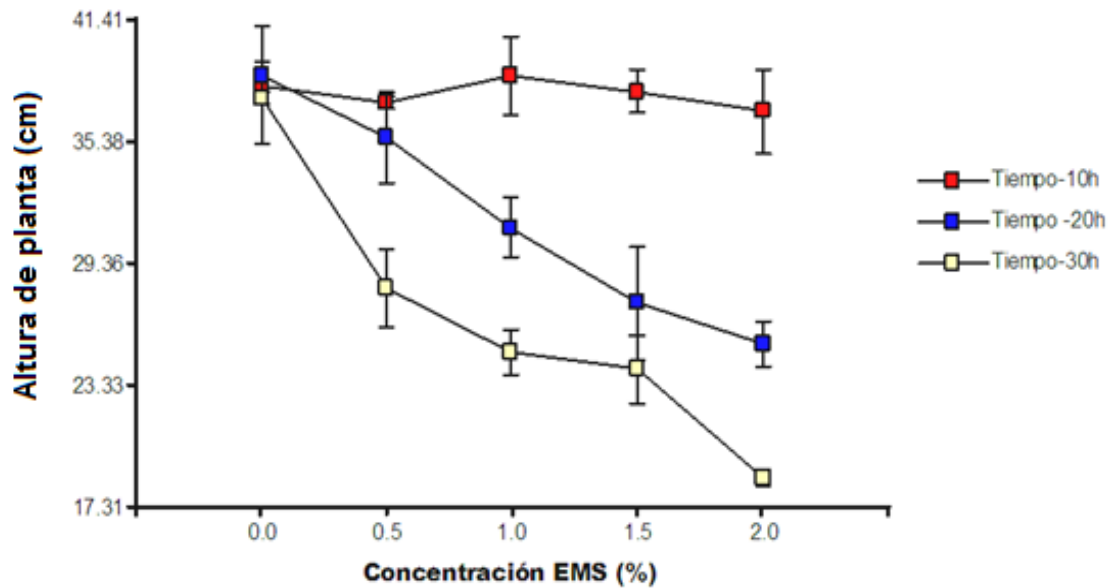


Figura 25: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable altura de planta (cm) en planta de sachu inchi (n=150).

3.2.5 Diámetro del tallo (mm)

Esta variable fue medida a los 27 DDE; el ANVA no muestra significancia entre los tratamientos en estudio, observándose que no existe diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos y con una media de 4,79 mm (Tabla 16).

Tabla 16

Análisis de varianza para diámetro de tallo (mm) en planta de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	0,01	0,01	0,29	0,748	ns
Factor B: Concentración	4	0,15	0,04	2,15	0,0993	ns
Interacción AxB	8	0,22	0,03	1,6	0,1657	ns
Error	30	0,51	0,02			
Total	44	0,88				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 4,79 mm

C.V = 2,72%

R2 = 42%

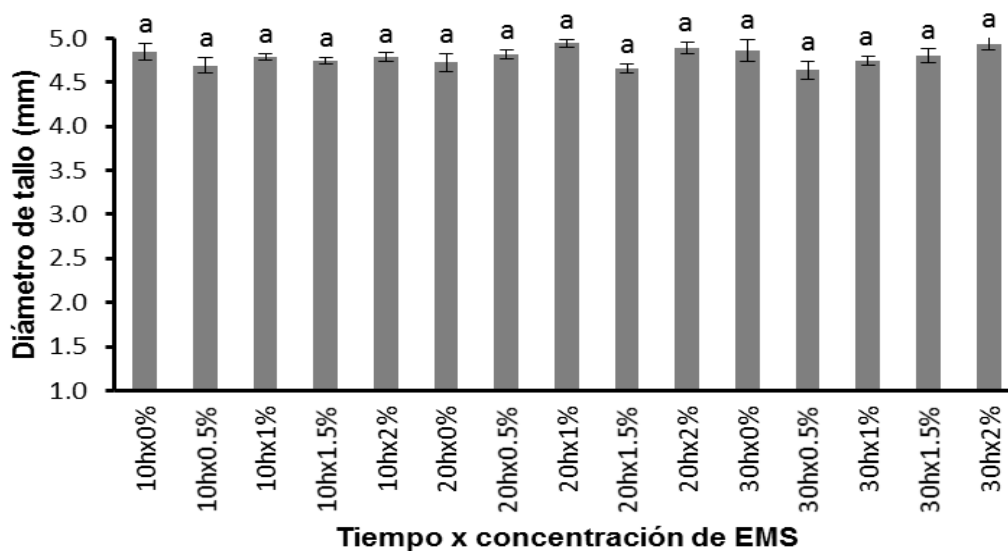


Figura 26: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para el diámetro de tallo en planta de sachá inchi tratadas con EMS (n=150).

3.2.6 Número de hojas/planta

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA, muestra que existe una diferencia significativa al 99 % entre el factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0%) y la interacción entre el Factor A x B, con una media de 7,19% (Tabla 17). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra la significancia del Factor A, observándose que a medida que se incrementa el tiempo de exposición existe un retardo en el incremento de número de hojas/planta (Figura 27). La significancia del Factor B, muestra que a medida que se incrementa la concentración de EMS también existe un retardo en el incremento de número de hojas/planta (Figura 28). La significancia entre la interacción del Factor A x B resalta que a medida que se incrementa la concentración de EMS y el tiempo de exposición, muestran un efecto directo en el retardo en el incremento de número de hojas/planta (Figura 29).

Tabla 17

Análisis de varianza para el número de hojas/planta de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	11,42	5,71	27,73	<0,0001	**
Factor B: Concentración	4	5,56	1,39	6,75	0,0005	**
Interacción Ax B	8	5,54	0,69	3,36	0,0072	**
Error	30	6,18	0,21			
Total	44	28,7				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 7,19%

C.V = 6,31%

R2 = 78%

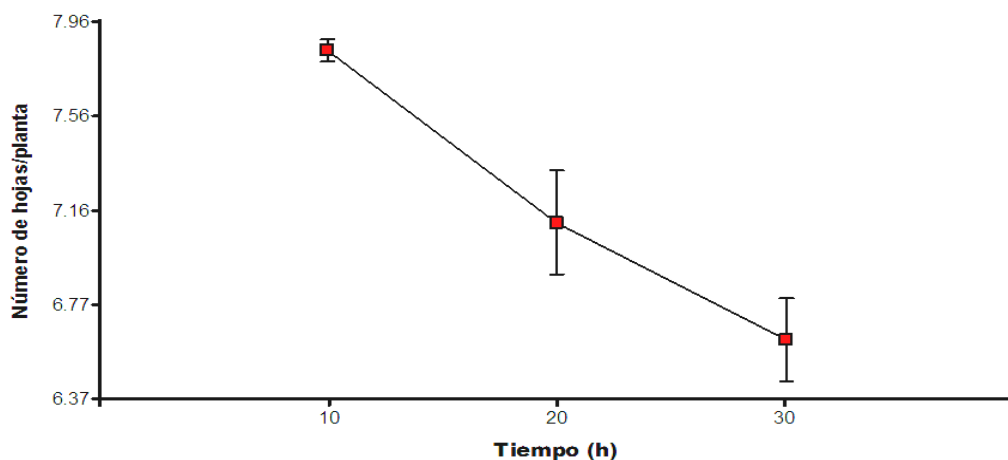


Figura 27: Efecto del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable número de hojas/planta de sachá inchi tratadas con EMS (n=150).

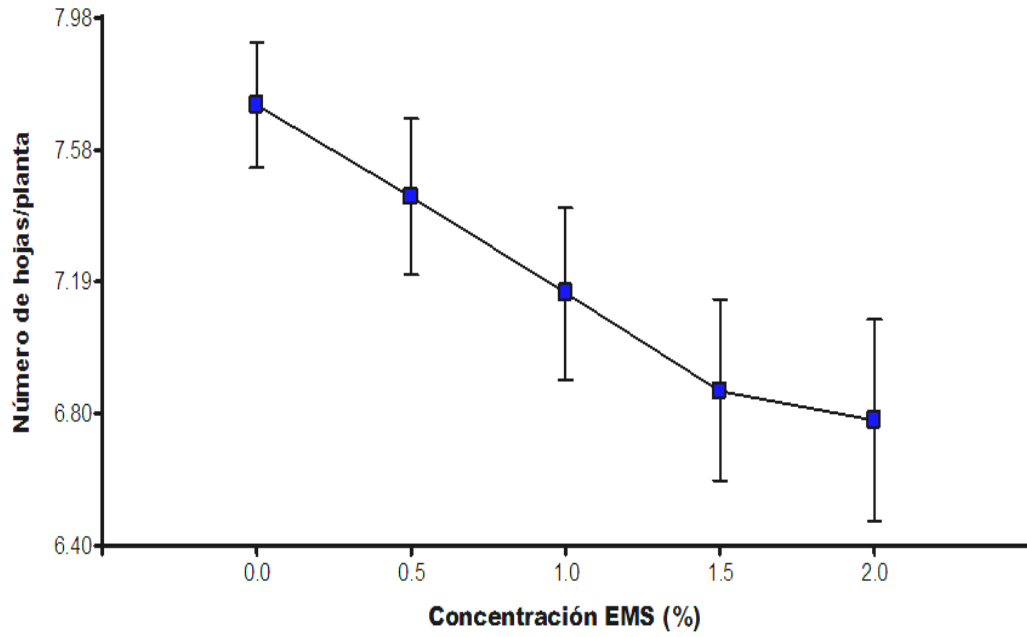


Figura 28: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable número de hojas/planta de sachá inchi (n=150).

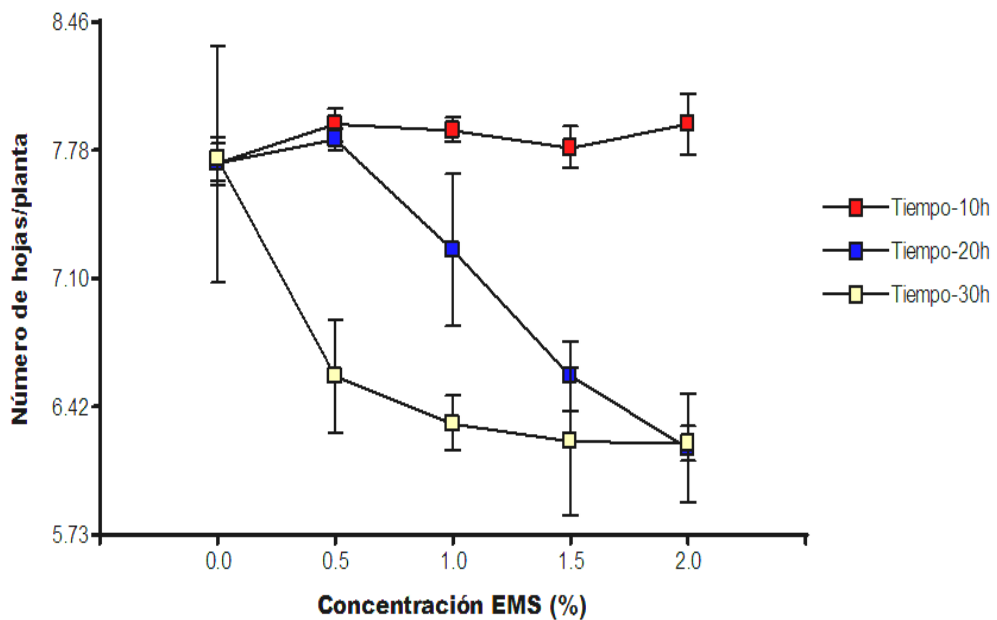


Figura 29: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable número de hojas/planta de sachá inchi (n=150).

3.3 Alteraciones morfológicas por efectos de radiación gamma

La planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma presentaron alteraciones en la forma y coloración de hojas, así como también en la forma del tallo. A continuación, se detalla las observaciones realizadas en los diferentes órganos:

3.3.1 Alteraciones en la forma de hojas

Los resultados muestran que el testigo T0 presentó un 3,5% de hojas irregulares en comparación con los tratamientos en estudios, T1 al T6 varían entre 47% a 83%, observando el aumento de las alteraciones en la forma de hoja al incrementar la concentraciones. Donde el T5 y T6 presentan al 100% alteración en las hojas. La dosis de 800 y 900 Gy no generó alteraciones en la forma de hojas debido a la no sobrevivencia de la plántula por la letalidad de la dosis (Figura 30).

Tabla 18

Análisis de varianza para la alteración en la forma de hojas tratadas con radiación gamma

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	2,2073	0,3201	348	<0,0001	**
Error	7	0,0039	0,0007			
Total	13	2,2112				

** = Significancia (99%)

* = Significancia (95%)

ns = no significancia

X = 56,75%

C.V = 3,64%

R2 = 65%

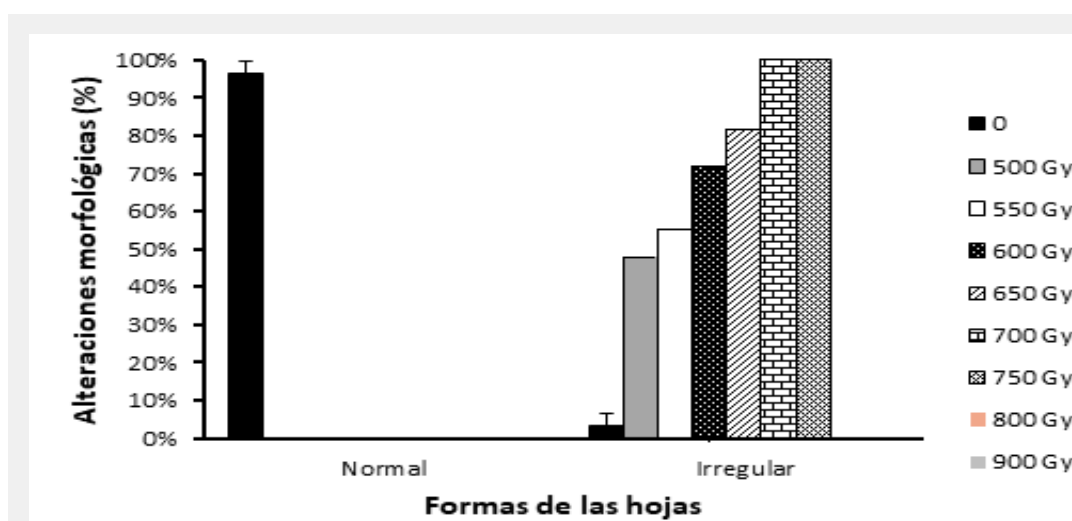


Figura 30: Alteraciones en la forma de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de Radiación gamma (n=100).

3.3.2 Coloración en las hojas

Esta variable fue evaluada a los 30 DDE; el ANVA muestra una diferencia al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 19). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con radiación. El porcentaje de plantas con por lo menos una hoja clorótica en el testigo T0 reporta un 0%, mientras que para los tratamientos con radiación vario entre 45 a 85%, observándose un incremento en el porcentaje de plantas con una hoja clorótica a medida que se disminuye la concentración de Radiación gamma. Los tratamientos T5 y T6 no mostraron diferencias significativas entre ellos, siendo los que presentaron los menos porcentajes de plantas con clorosis. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en el porcentaje de plantas con clorosis (Figura 31).

Tabla 19

Análisis de varianza para el porcentaje de plantas con clorosis germinadas a partir de semillas tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	1,2282	0,2047	330	<0,0001	**
Error	7	0,0043	0,0006			
Total	13	1.2325				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 54,85%

C.V = 2,65%

R2 = 99%

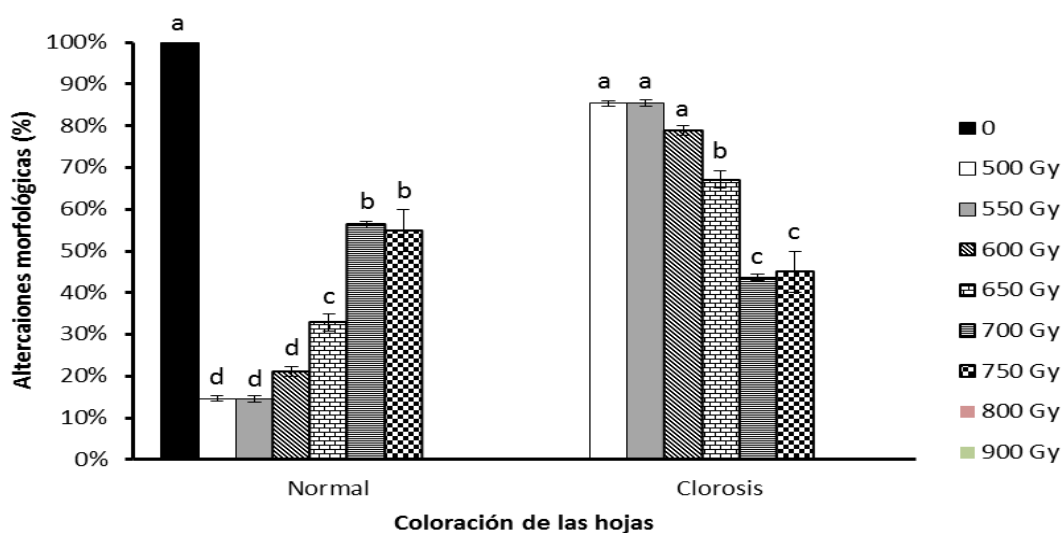


Figura 31: Alteraciones morfológicas en la coloración de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de Radiación gamma (n=100).

3.3.3 Fusiónamiento del tallo

Esta variable fue evaluada a los 30 DDE; el ANVA muestra que no existe diferencia significativa entre los tratamientos en estudio (Tabla 20 y Figura 32).

Tabla 20

Análisis de varianza para el porcentaje de tallas con fusiónamiento germinados a partir de semillas tratadas con radiación gamma (n=100)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	0,14	0,02	2,55	0,1235	ns
Error	7	0,06	0,01			
Total	13	0,20				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 4,59%

C.V = 6,75%

R2 = 69%

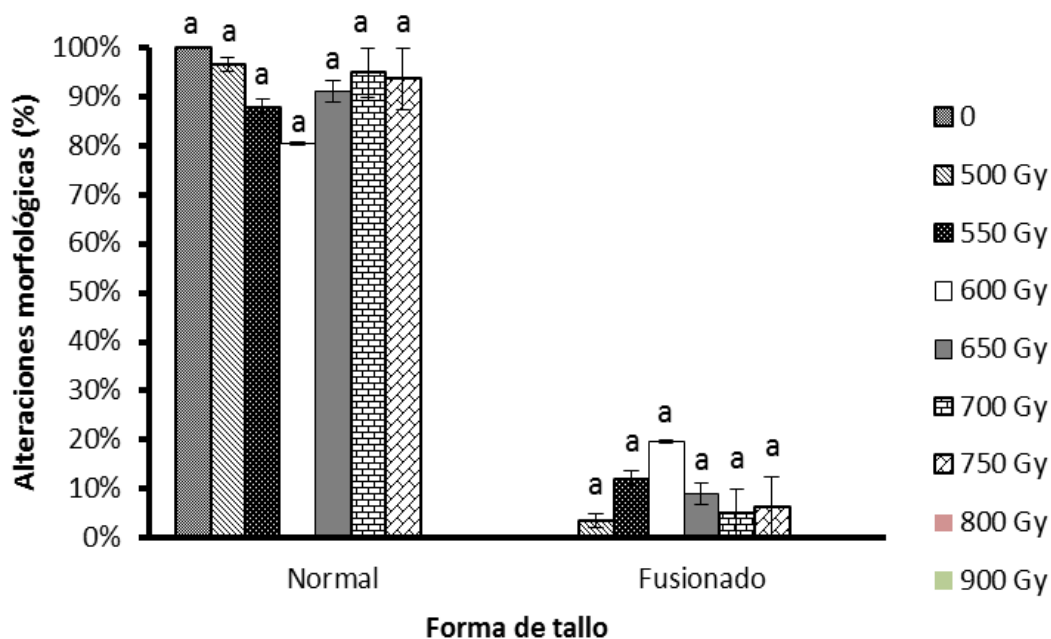


Figura 32: Alteraciones morfológicas en el fusiónamiento del tallo de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (n=100).

3.3.4 Longitud de raíz (cm)

Esta variable fue evaluada a los 31 DDE; el ANVA muestra una diferencia significativa al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 21). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que no existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos T1, T2, T3 y T4 con radiación; en tanto, los tratamientos T5 y T6

no muestran diferencias significativas entre ellos, siendo lo que presentaron los menores valores a la longitud de raíz. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en longitud de raíz (Figura 33).

Tabla 21

Análisis de varianza para la longitud de raíz (cm) en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=20)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	941,97	156,99	55,01	<0,0001	**
Error	7	19,98	2,85			
Total	13	961,94				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 21,963 cm

C.V = 7,69%

R2 = 98%

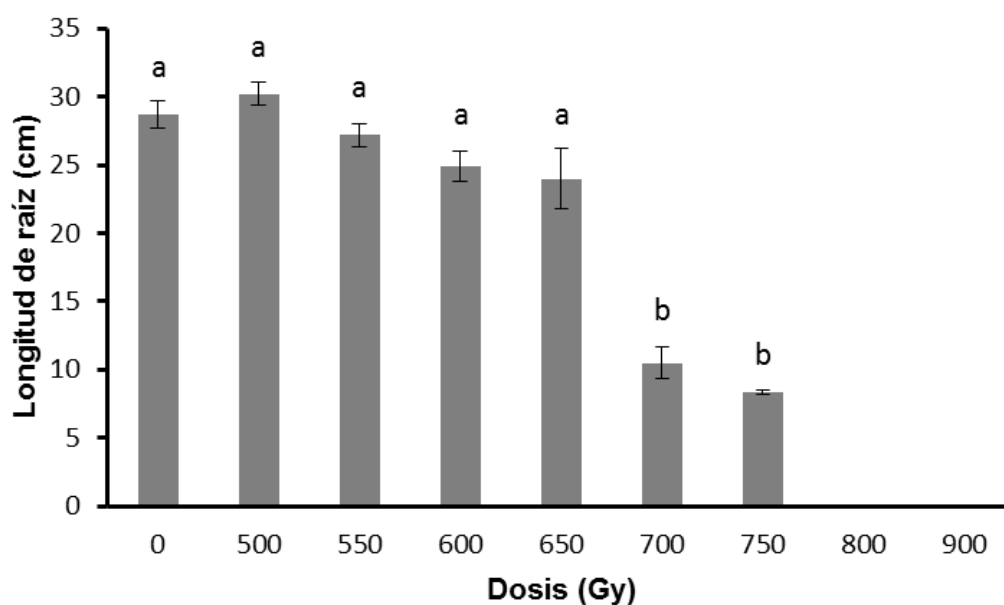


Figura 33: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para longitud de raíz en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=20).

3.3.5 Área foliar (cm²)

Esta variable fue evaluada a los 31 DDE; el ANVA muestra una diferencia significativa al 99% entre los tratamientos en estudio (Tabla 22). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos con radiación; el área foliar en el testigo alcanzo los 39,54 cm², mientras que los tratamientos con radiación vario entre 19,39 a 31,07 cm²,

observándose una disminución con el incremento de la concentración. Los tratamientos T5 y T6 no mostraron diferencias significativas entre ellos, mostrando valores bajos en el área foliar. Donde el T7 y T8 no mostraron ningún promedio en el área foliar. (Figura 34).

Tabla 22

Análisis de varianza para el área foliar (cm²) en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=20)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Tratamientos	6	674,93	112,49	15,97	0,0009	**
Error	7	49,32	7,05			
Total	13	724,25				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 25,116 cm²

C.V = 10,57%

R² = 93%

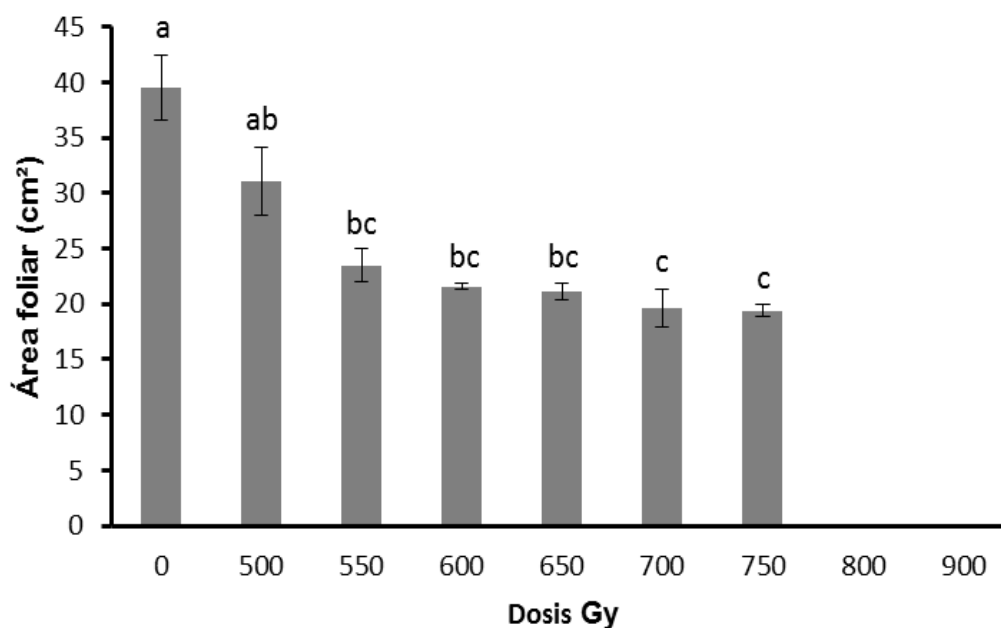


Figura 34: prueba de Tukey ($p < 0,05$) para área foliar (cm²) en planta de sachá inchi tratadas con radiación gamma (n=20).

3.4 Alteraciones morfológicas por efectos de EMS

La planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS presentaron alteraciones en; la forma, coloración de hojas, forma del tallo, longitud de raíz y área foliar. A continuación se detalla las observaciones realizadas en los diferentes órganos:

3.4.1 Forma de hoja

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA no muestra diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que no hubo diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos (Figura 35).

Tabla 23

Análisis de varianza para la alteración en forma de hojas de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	848,92	454,46	125,56	<0,0171	*
Factor B: Dosis	4	456,58	135,62	34,82	<0,0001	**
Interacción AxB	8	256,32	54,55	12,33	<0,0001	**
Error	30	119,05	4,97			
Total	44	1670,87				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 46,148 %

C.V = 3,87%

R2 = 92%

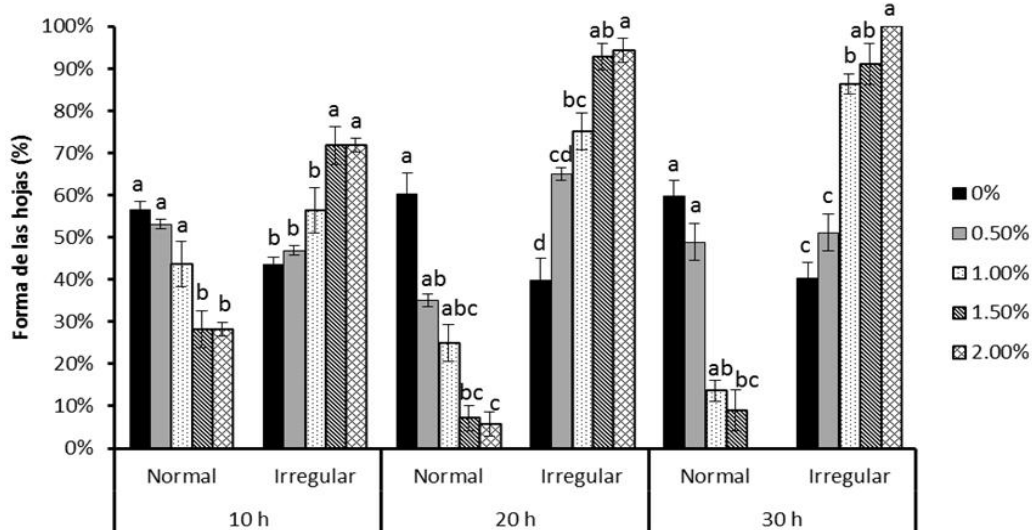


Figura 35: Alteraciones en la forma de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=100).

3.4.2 Coloración de hojas

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA no muestra diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que no hubo diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos (Figura 36).

Tabla 24

Análisis de varianza para la alteración en la coloración de hojas de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	748,98	364,66	115,46	<0,0031	**
Factor B: Dosis	4	486,48	135,62	24,92	<0,0001	**
Interacción AxB	8	286,42	54,55	16,38	<0,0001	**
Error	30	108,05	3,47			
Total	44	1629,93				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 56,19%

C.V = 4,87%

R² = 88%

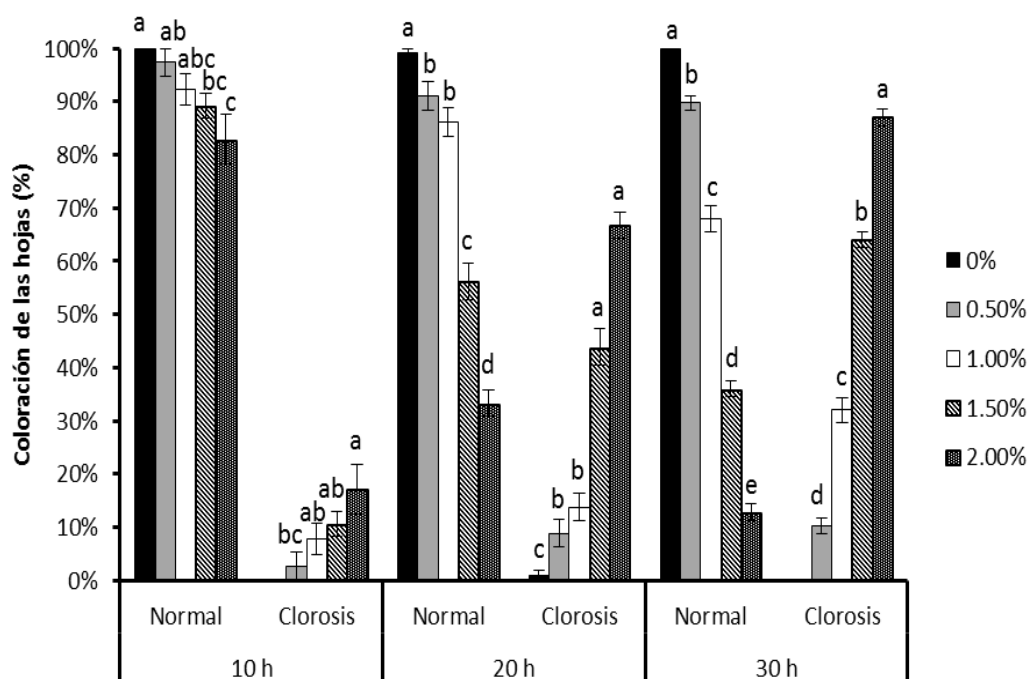


Figura 36: Alteraciones morfológicas en la coloración de las hojas de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=150).

3.4.3 Meristema apical

Esta variable fue evaluada a los 27 DDE; el ANVA no muestra diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que no hubo diferencias significativas en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y la interacción A x B de los tratamientos (Figura 37).

Tabla 25

Análisis de varianza para la alteración en el meristema apical de sachá inchi tratadas con EMS (n=150)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	848,78	314,26	125,86	<0,0001	**
Factor B: Dosis	4	556,48	105,42	35,87	<0,0001	**
Interacción AxB	8	286,42	44,58	15,38	<0,0001	**
Error	30	108,05	3,12			
Total	44	1799,63				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 48,68%

C.V = 3,87%

R² = 90%

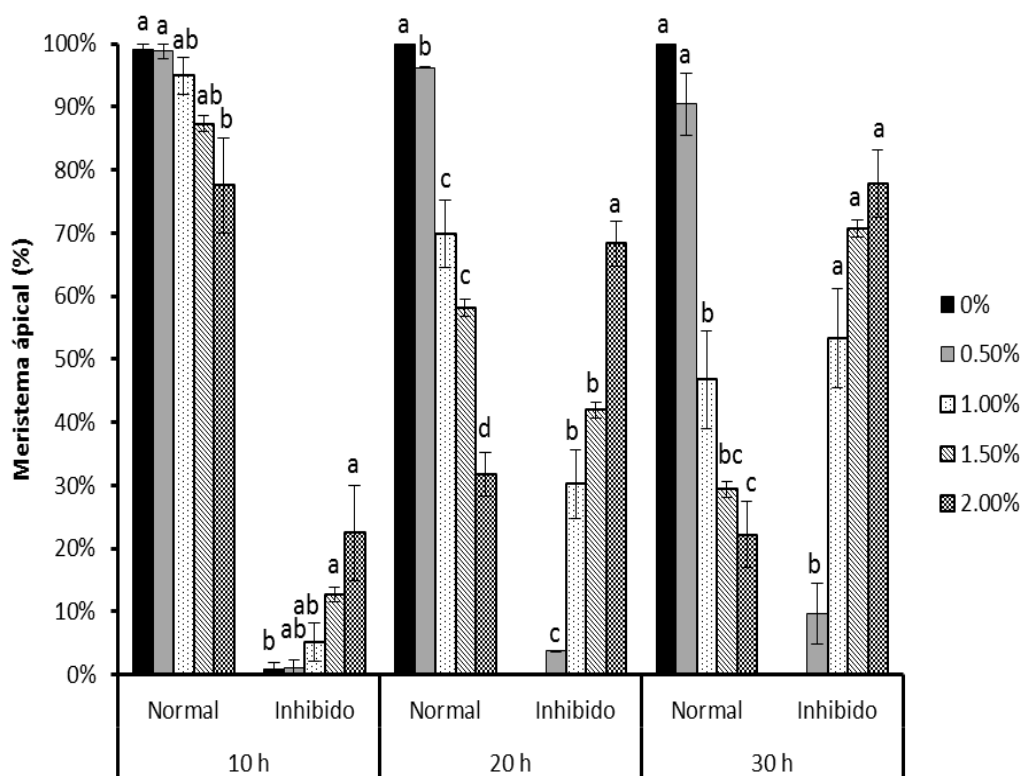


Figura 37: Alteraciones morfológicas en el meristema apical de planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (n=150).

3.4.4 Longitud de raíz (cm)

Esta variable fue evaluada a los 28 DDE; el ANVA muestra significancia al 99% únicamente en el Factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h). En tanto, en el Factor B: Concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0%) y la interacción de los factores A x B no presentó significancia, mostrando así una media de 24,21 cm (Tabla 26). El valor más alto de la longitud de raíz fue observado en el tiempo de 20 h a una concentración de 1,5 % de EMS, donde el diámetro de tallo varió de 27,07 a 20,78 mm y la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los valores observados no muestran diferencias significativas, pero si numéricamente entre el tiempo de exposición y las concentraciones de EMS (Figura 38).

Tabla 26

Análisis de varianza para la longitud de raíz en planta de sachá inchi generadas en semillas con EMS (n=30)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	116	58	10,39	0,0004	**
Factor B: Concentración	4	13,25	3,31	0,59	0,6703	ns
Interacción AxB	8	37,7	4,71	0,84	0,5721	ns
Error	30	167,48	5,58			
Total	44	334,43				

** = Significancia (99%)

* = Significancia (95%)
X = 24,21 cm

ns = no significancia
C.V = 9,76%

R² = 50%

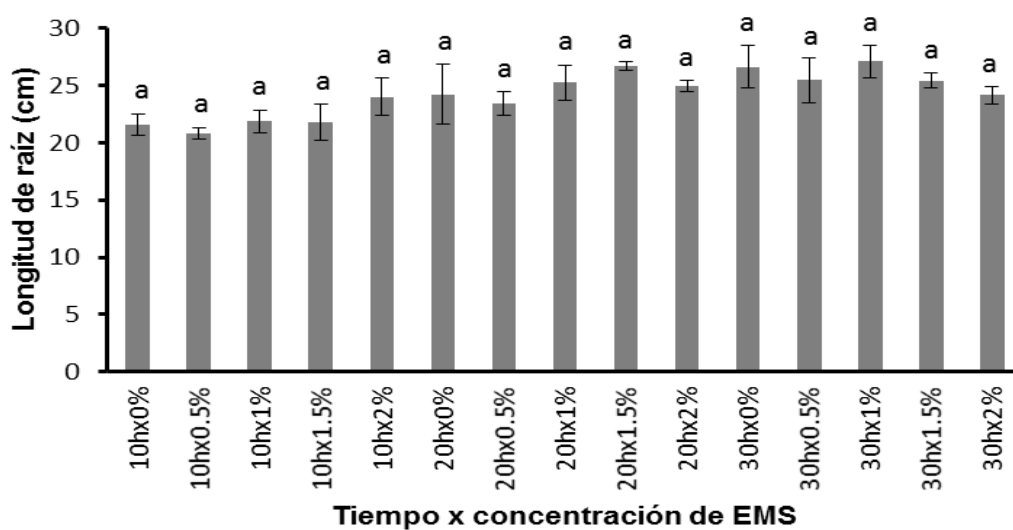


Figura 38: Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la longitud de raíz en planta de sachá inchi con EMS(n=30).

3.4.5 Área foliar (cm²)

Esta variable fue evaluada a los 28 DDE; El ANVA, muestra que existe una diferencia significativa al 99 % entre el factor A: tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), Factor B: concentración de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0%) y la interacción entre el Factor A x B, con una media de 50,20 cm² (Tabla 27). La prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra la significancia del Factor A, observándose que a medida que se incrementa el tiempo de exposición existe un menor área foliar (Figura 39). La significancia del Factor B, muestra que a medida que se incrementa la concentración de EMS también existe un menor área foliar (Figura 40). La significancia entre la interacción del Factor A x B resalta que a medida que se incrementa la concentración y el tiempo de exposición, muestra un efecto directo en el área foliar (Figura 41).

Tabla 27

Análisis de varianza para el área foliar (cm²) en planta de sachá inchi (n=30)

Fuente de variación	G.L	S.C	C.M	F	p-value	Sinf.
Factor A: Tiempo de exposición	2	948,92	474,46	119,56	<0,0001	**
Factor B: Concentración	4	522,58	130,64	32,92	<0,0001	**
Interacción Ax B	8	356,42	44,55	11,23	<0,0001	**
Error	30	119,05	3,97			
Total	44	1946,97				

** = Significancia (99%) * = Significancia (95%) ns = no significancia

X = 50,198 cm²

C.V = 3,97%

R² = 94%

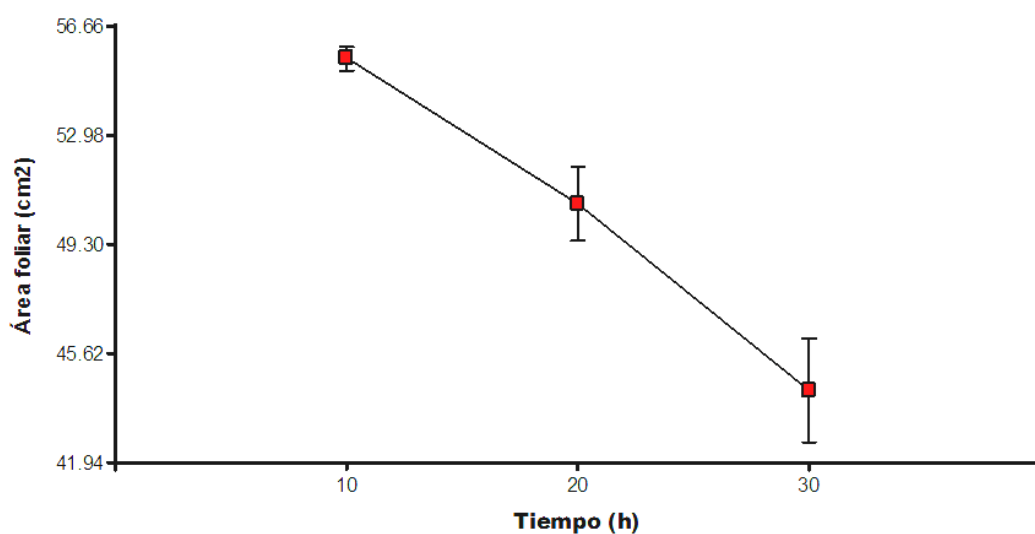


Figura 39: Efecto del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, en la variable área foliar (cm²) de planta de sachá inchi (n=30).

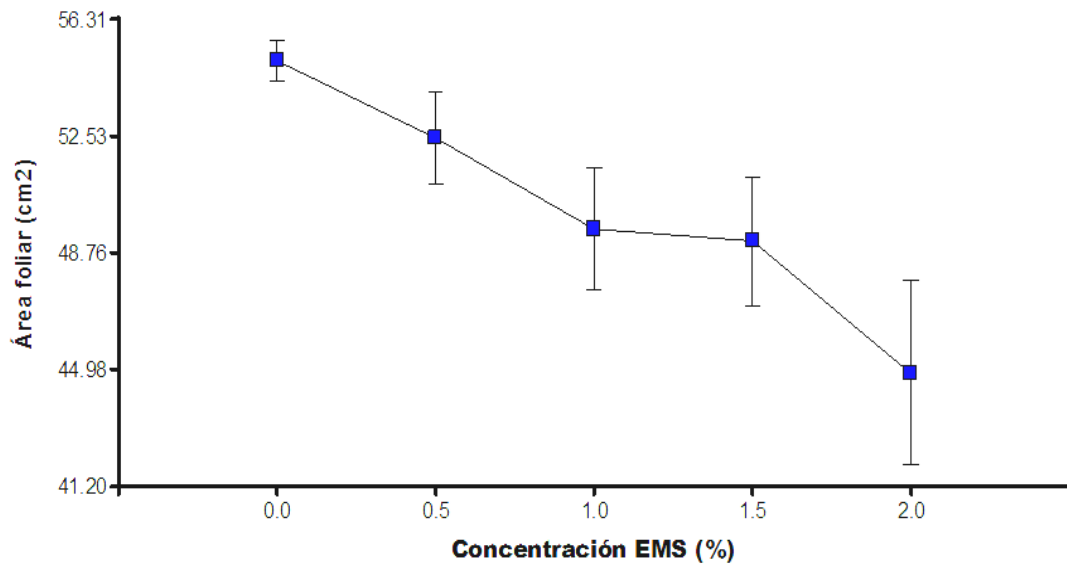


Figura 40: Efecto del Factor B: Concentración de EMS, en la variable área foliar (cm²) de planta de sachá inchi (n=30).

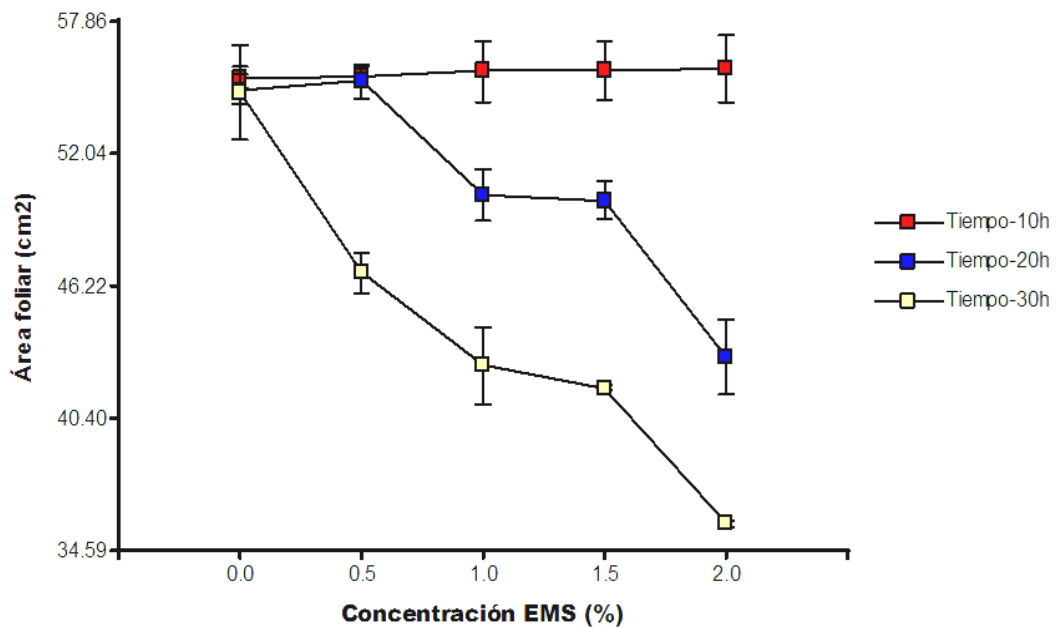


Figura 41: Efecto de la interacción del Factor A: Tiempo de exposición a EMS, y el factor B: Concentración de EMS, en la variable área foliar (cm²) de planta de sachá inchi (n=30).

3.5 Discusión

3.5.1 Característica de los estados fenológicos en semillas tratadas con radiación gamma (Gy).

Las evaluaciones somáticas de la radiación en semillas de plantas de sachá inchi, se realizó en condiciones controladas en vivero, los efectos somáticos están relacionados con los daños fisiológico causados por la irradiación. Las discusiones en germinación, emergencia, sobrevivencia, altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas/plantas y las alteraciones morfológicas; forma de hojas, coloraciones en hojas, funcionamiento de tallo, longitud de raíz y área foliar se presenta a continuación.

a. Porcentaje de germinación

Semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (entre 0 Gy a 900 Gy), mostraron un alto porcentaje de germinación en las dosis de 650 Gy; 750 Gy y 900 Gy, el tratamiento testigo T0 Gy con 100% de germinación. Las dosis de 500 Gy; 550 Gy; 600 Gy; 700 Gy y 800 Gy, se redujo hasta 95 % de germinación; no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. Las semillas que lograron germinar a elevadas dosis de radiación mostraron raíces cortas, engrosadas y pocas definidas, por lo que resultaron ser menos vigorosas. (Figura 13). Estos mismos trabajos realizados en (*Lathyrus chrysanthus* B.), demuestran que el efecto inhibitorio de la radiación gamma sobre la germinación de las semillas, observando un porcentaje de 68 % en las dosis de más de 150 Gy (Radhadevi y Nayar, 1996, Kumari y Singh, 1996; Chaudhuri, 2002).

En este sentido (Songsri *et al.*, 2011) un estudio realizado en (*Jatropha* sp.), mostró que los porcentajes de germinación fueron de 4,0% para 100 Gy a 82,5% para 0 Gy. Las semillas tratadas con radiación gamma superior a 600 Gy resultaron en mortalidad completa. La diferencia entre los genotipos no fue significativa para estos caracteres. Se consideró germinadas, a la aparición de radícula o raíz principal en la cámara húmeda. La razón de esta estimulación se debe principalmente a la aceleración en las tasas de división celular (Zaka, 2004),

así como también a la activación de auxinas (Gunckel y Sparrow, 1991). Este resultado encontrados en la variable porcentaje de germinación coincide con la investigación de Peso, (2014), que en su trabajo de investigación utilizó la radiación gamma con dosis de (0, 2, 5, 10, 25, 50, 100, 200 y 400 Gy) en semilla de planta de sachá inchi, menciona que el más bajo promedio de germinación se obtuvo en el T8 (200 Gy) y T9 (400 Gy) con un medias de 61 a 62 % de germinación. También explica que a medida que la dosis fue aumentando el poder de germinación disminuye al 61%, mientras que el testigo mantuvo su capacidad con 100%.

Trabajo realizados con radiación gamma en piñón (*Jathropa* sp), se mostró que a dosis de 5 Gy a 10 Gy tuvieron alto efecto sobre la germinación de semillas con 84,9 y 73, 1%; menudo que las dosis incrementa puede ser atribuidas a disturbios a nivel celular a dosis de 20 y 50 Gy, el porcentaje de semillas se redujo hasta 16,6% (Dhillon, 2014).

b. Porcentaje de emergencia

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación Gamma (entre T0 0 Gy a T8 900 Gy), mostraron diferencias en el porcentaje de emergencia T0 99% y T8 78% de porcentaje de emergencia, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 15). Las dosis de (0; 500; 550 y 600 Gy), muestran un 99% de emergencia que supera a los demás tratamientos en estudio y la dosis de 650 Gy obtuvo un porcentaje de 95% de emergencia, mientras la dosis de 700 y 750 Gy) con 96 % de emergencia. Donde la dosis de 800 y 900 obtuvieron los porcentajes más bajos con 86 y 78% de emergencia.

Se consideraron semillas emergidas a aquellas que mostraron un desarrollo del hipocótilo y tallo con la aparición de las primeras hojas verdaderas por encima del suelo (sustrato). El porcentaje de emergencia de las plantas tratadas demostró una relación bien definida según la tasa de dosis, lo cual decreció con el incremento según la concentración de las mismas.

En general el desarrollo de las funciones fisiológicas es inversamente proporcional a las dosis empleadas dependiendo de la habilidad de la planta para desarrollar inhibición (Broertjes, 1972 y Eliot, 1964).

Por su parte (Allende, 2014). Explica que los genotipos de M-2 y M-6 de (*Amaranthus hypochondriacus*), presentaron emergencia uniforme entre tratamientos a exposición de la dosis de 150 Gy donde los genotipos A-21-0-10 y Mixquic-09 hubo tratamientos donde la emergencia fue adelantada respecto al tratamiento testigo.

Trabajos similares realizados en (*Plukenetia vulibilis* L.), reporta que el tratamiento testigo T1 (0 Gy) obtuvo un promedio de 100 % de emergencia. Donde el T7 (100 Gy) y T8 (200 Gy) mostraron los promedio más bajos con 42 y 14,65% de emergencia. Mientras que el T9 (400 Gy) menciona que no generó plantas emergidas debido a la letalidad de la dosis causando muerte y pudrición en las semillas (Peso, 2014).

c. Sobrevivencia de plántula

Las semillas de sacha inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (entre 0 a 900 Gy), mostraron un porcentaje de supervivencia (entre 98 a 13%); existiendo así diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 16). Donde el testigo (0 Gy) mostro supervivencia mayor a los tratamientos con radiación. Las dosis de (500; 550 Gy), mostraron diferencias estadísticas con un porcentaje de 89 y 82 % de supervivencia. La dosis de 600 Gy obtuvo un porcentaje de 58% de supervivencia y las dosis de 650 Gy mostro un porcentaje al 33% de supervivencia, donde las dosis de 700 y 750 Gy no mostraron diferencias estadísticas, con menos porcentajes de supervivencia 14 y 13 %. La dosis de 800 y 900 Gy no generó plantas sobrevivientes debido a la letalidad de la dosis, ya que la alta intensidad de radiación provoco la muerte y posterior pudrición de las semillas. El porcentaje de supervivencia fue adversamente afectado por las dosis más altas de rayos gammas, explicando que las plantas de semillas irradiadas que llegaron a sobrevivir disminuyeron radicalmente con el incremento del nivel de irradiación.

En un trabajo realizado en (*Vigna unguiculata* L.) con dosis de radiación bajas, esta fue irradiado en dos genotipos; el genotipo TC 9-6 donde solo fu afectado por la dosis de 60 Gy con 57 % de supervivencia y el genotipo A-4, fue adversamente afectado a dosis mayores de 30 Gy con 25% de supervivencia (Yrasema *et al.*, 2002).

Por otro lado (Peso, 2014), realizó un trabajo de investigación en (*Plukenetia volubilis.*), y menciona que el porcentaje de supervivencia en semillas irradiadas en dosis más alta de 200 Gy, obtuvo un 7% de promedio, mientras a dosis 400 Gy no generó plantas sobrevivientes debido a la alta letalidad de la dosis que perjudican el desarrollo fisiológico de la planta.

d. Altura de planta

Los resultados mostrando en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (entre 0 a 900 Gy), existiendo diferencias altamente significativas entre los tratamientos en estudio. Mostró mejor resultado en la dosis sin radiación (0 Gy - testigo), con un promedio de altura de planta (11,95 cm), mientras los tratamientos con radiación en dosis 500 y 550 Gy, se vio afectado la altura de planta con un promedio de (3,95 y 3,87 cm), mientras la dosis de 700 y 750 Gy, se observó afectó de la radiación gamma en la altura de planta siendo lo más bajos promedios con (1,43 y 1,38 cm). Se observa mortandad a partir de dosis alta de 800 y 900 Gy, mostrando así que la radiación gamma tiene efecto inhibitorio en alta dosis, donde se observó que a dosis altas inhibe el crecimiento de la planta (Figura 17).

Trabajos realizados en (*Cymbopogon martinii* S.), describen que las causas de la reducción en el crecimiento de las plantas están basadas en la destrucción de auxinas, cambios en el contenido de ácido ascórbico y los disturbios fisiológicos y bioquímicos (Srivastava y Tyagi, 1986). También (Khan y Goyal, 2009), explica que la radiación gamma tiene efectos inhibitorios en los rasgos fisiológicos y físicos.

Por otro lado (Gual, 1977) en Austria, reporta que el efecto inhibitorio de los mutágenos en la altura de planta fue evidente debido a la disminución que se

generó por causa de un aumento de dosis o concentración de radiación gamma. Esta reducción y el retardo del crecimiento a mayor dosis de radiación gamma, esta atribuida a los efectos mutagénicos provocado en el sistema fisiológico.

Por su parte (Peso, 2014), en su tratabajo de investigación en semillas irradiadas de (*Plukenetia vulibilis* L.), menciona que el T1 (0 Gy – testigo) obtuvo el promedio más alto en altura planta con 53,66 cm, al resto de los tratamientos. Donde los T6 (50 Gy) y T8 (200 Gy), obtuvieron los más bajo promedio con 19,33 y 9,08 cm en altura de planta.

e. Diámetro de tallo

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (entre 0 a 900 Gy), existiendo diferencias altamente significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 18); según los resultados obtenidos el tratamiento (0 Gy-Testigo), mostro un mejor resultado presentándose el tallo más grueso con 4,82 mm. Los tratamientos con radiación a dosis de 500 y 550 Gy, se observó que la radiación ha afectado al diámetro de tallo con un promedio (3,77 y 3,23 mm). Donde las dosis de 600 Gy hasta 750 Gy, afectó con alta intensidad mostrando el tallo más delgado con promedio bajo de (2,62 mm y 2,27 mm). Se observó mortandad a partir de dosis alta de 800 y 900 Gy, mostrando así que a alta dosis afectan el desarrollo de las semillas de sachá inchi tratadas con radiación gamma.

Se menciona que los resultados obtenidos indican que para el diámetro de tallo se genera un efecto directo al incremento de las dosis de radiación gamma, ya que un comportamiento común de los atributos fenológicos y morfológicos, es presentar tendencias a disminuir sus valores en respuesta al incremento de las concentraciones de radiación gamma.

Trabajos realizadas en dos genotipo (Mixquic – 09), explican que hubo efectos directo a dosis de 50 y 450 Gy mostraron tallos delgados y en (M- 2) las dosis de 300 Gy presentaron el tallo más grueso que el tratamiento testigo 0 Gy (Allende. 2014).

(Peso, 2014), reporta en su trabajo de investigación en semillas irradiadas de planta (*Plukenetia vulibilis* L.), que los tratamientos T6 (50 Gy) y T8 (200 Gy) obtuvieron los promedios más alto en diámetro de tallo con 0,557mm, superando así al T1 (0 Gy-testigo) con 0,527 mm, donde los más bajos se dieron en el T2 (2 Gy) y T5 (25 Gy) con promedio de 0,520 y 0,515 mm.

f. Número de hojas/plantas

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma (entre 0 a 900 Gy), existiendo diferencias altamente significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 19); el número de hojas/plantas mostró un mejor resultado en semillas tratadas en dosis de (0 Gy – testigo) con un promedio alto de (13,39 hojas), mientras los tratamientos con dosis de 500 y 550 Gy, se vio afectado el número de hojas/plantas con un promedio de (9,17 y 7,07 hojas). Mostrando así que a dosis de 650 y 650 Gy, se observó la disminución de número de hojas/plantas con (5,90 y 6,006 mm), donde a dosis de 700 y 750 Gy, se vio que afecto con mayor frecuencia el número de hojas/plantas obteniendo un promedio muy bajo de (4,38 y 4,62 hojas), por la cual las dosis de 800 y 900 Gy, no mostró ningún promedio en número de hojas/plantas, se afirma que a dosis altas inhiben el desarrollo de la planta.

Trabajo similares realizado en (*Jatropha curcas* L.) con diferentes dosis de radiación explican que el número de hojas fue alto (4,53 hojas) para la semillas que recibieron 400 Gy y las más baja (3,20 hojas) para la semilla que recibieron 0 Gy (Songsri *et al.*, 2011). También (Peso, 2014), explica que T4 (10 Gy) y T3 (5 Gy) obtuvieron los promedios más altos con 9,83 y 9,62 en número de hojas/plantas, superando así al T1 (0 Gy-testigo) con 9,52 de promedio en número de hojas/plantas y los más bajos en los T5 (25 Gy) con 8,26 número de hojas y el T8 (200 Gy) con 7,67 de promedio.

3.5.2 Característica de los estados fenológicos de planta de sachá inchi a partir de semillas tratadas con diferentes concentración de EMS.

Las evaluaciones somáticos de EMS en semillas de planta de sachá inchi, se realizó en condiciones controladas en vivero, los efectos somáticos están relacionados con los daños fisiológico causados por la concentración de EMS. Las discusiones en emergencia, sobrevivencia, altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas/plantas y las alteraciones morfológicas; forma de hojas, coloración en las hojas, funcionamiento de tallo, longitud de raíz y área foliar se presenta a continuación.

a) Porcentaje de emergencia

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%), mostraron un alto porcentaje de emergencia (entre 85 a 93%); no existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 21). Los valores obtenidos de esta variable demostraron una relación no tan definida, en la cual no decreció con el incremento de la concentración y el tiempo de exposición. Indicando que las semillas expuestas en agua y con EMS, favoreció al desarrollo de las funciones fisiológicas de la planta.

Estudio realizados en (*Capsicum annuum* L). B12, resalta que las concentraciones de 1,25 % de EMS, afecta en la emergencia un 75 %, en bajas concentraciones de 0,25 0,50 % de EMS mantienen una emergencia de 100% (Arisha *et al.*, 2014). Donde (Fowler y Stefansson, 1972), indican que el prensado de las semillas en agua aumenta la penetración de los mutágenos en las semillas (*Brassica napus*) y conduce a un mayor efecto sobre las actividades metabólicas, aumentando así la eficacia del EMS a concentraciones relativamente bajas.

b) Porcentaje de sobrevivencia

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%), mostraron un alto porcentaje de supervivencia (entre 85 a 93%); existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 22). Mostrando así una relación bien definida en la concentración y el tiempo de exposición. Donde la sobrevivencia fue

adversamente afectada de acuerdo a las concentraciones de EMS y el tiempo de exposición, esto quiere decir que las semillas con EMS que llegaron a sobrevivir disminuyeron al incremento del nivel de concentraciones del EMS y el tiempo que estaba expuesta la semilla.

Según (Shah, 2015), reporta que la supervivencia alta se dio en 100% (testigo), mientras la supervivencia mínima se dio a 63,33% con una concentración de 1,5% de EMS a un tiempo de 24 horas. Mientras que (Arisha *et al.*, 2014), explican que alrededor de 70 % de las plantas sobrevivieron en el T1 y T2 a concentración relativamente bajas entre 0,25 y 0,5% de EMS a un tiempo de 6 h y donde se observaron que el T3 fue el más alto a un concentración de 0,50 y 0,75% de EMS. (Devi y Mullainatha, 2012) menciona que el aumento de las concentraciones de EMS puede dañar el embrión o afectar los procesos fisiológico y biológico.

c) **Altura de planta**

Los resultados obtenidos en semillas de sachu inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h); existiendo diferencias altamente significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 25). Mostrando que el tiempo de exposición 10 h, a una concentración de 1,0 % de EMS y el testigo 0,0 % de concentración mostraron la altura de planta más alta con promedio de 38,67 y 38,18 cm.

Donde el tiempo de exposición de 20 h, muestra que el testigo 0,0 % de concentración de EMS, obtuvo la altura de planta más alta con promedio de 38,61 cm, y a concentración de 1,5; 2,0 % de EMS existiendo un menor retardo en el crecimiento a la altura de planta. Donde la concentración de 1,5 y 2 % de EMS, con un tiempo de exposición 30 h, se observó que la altura de planta fue disminuyendo, mostrando un mayor retardo del crecimiento en la altura de planta.

Estos resultados tienen similitud con Trabajos realizados en Malaysian Rice (cv. MR219), observaron que, al aumentar las concentraciones al 0,25% de EMS disminuye la altura de la planta de semillero (Benjavad *et al.*, 2012). Por otro lado (Arisha *et al.*, 2014), coincide que la altura de planta fue disminuyendo

significativamente con el aumento de las concentraciones de EMS. Por su parte (Devi y Mullainathan, 2011), atribuye que la altura de planta puede ser usado como un indicador importante para determinar los efectos biológicos. También (Tropa, 2010), atribuye que la altura inicial de las plantas podrían ser indicadores del efectos de la inducción de mutaciones.

d) Diámetro de tallo

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%), no mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 26). Mostraron un alto promedio de diámetro (entre 4,66 a 4,99 mm). El promedio de diámetro de tallo más grueso se muestra en 20 y 30 h, a una concentración 1,0 y 2,0% de EMS obtuvieron los mismos promedios en el diámetro de tallo con 4,94 mm superando a los demás tratamientos en estudio. El promedio más bajo de diámetro de tallo se observó en el tiempo de 20 y 30 h, a una concentración 1,5 y 0,5 % de EMS con promedio de 4,66 y 4,64 mm. El tiempo de exposición de 10 h, se observó que el testigo 0,0 % de concentración EMS, obtuvo el diámetro de tallo más grueso con 4,85 mm. Donde las concentraciones de 0,5 a 2,0 % de EMS, mostró igualdad estadísticamente pero diferentes numéricamente con 4,69 y 4,79 mm.

Los EMS tienen efectos puntuales mostrando lesiones inducidas de acuerdo al incremento de las concentraciones y al tiempo que está expuesto las semillas. Los valores obtenidos de esta variable demostraron una relación no tan definida, en la cual no decreció con el incremento de la concentración y el tiempo de exposición. Indicando que las semillas expuestas en agua y con EMS.

e) Número de hojas

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 29). Mostrando así que el tiempo exposición 10 h, a una concentración de 2,0 % de EMS, existió mayor número de hojas con promedio de 7,94 %, superando al testigo 0,0 % de EMS y a los tratamientos con

concentración de EMS. Donde el tiempo de exposición de 20 h, muestra que la concentración de 0,5 % de EMS, obtuvo el mayor número de hojas con promedio de 7,84 %, mientras las concentraciones de 1,0 a 2,0% de EMS, se observa el retardo en el crecimiento de número de hojas con promedio que varía de 7,25 a 6,20 %. Donde el testigo 0,0 % de concentración de EMS, muestra el mayor número de hojas con 7,73 % a un tiempo de exposición de 30 h, mostrando así que las concentraciones de 0,5 a 2,0 % de EMS con promedio de 6,58 y 6,22 %, se observa que el número de hojas fue disminuyendo, mostrando un efecto directo en el retardo del crecimiento de número de hojas/planta.

Los resultados obtenidos en esta variable no se puede a firma que las diferentes concentración de EMS en semillas de sachá inchi causaron diferencias existentes con el tiempo de exposición en 10 horas. En consecuencia las diferencias existentes en los resultados para el número de hojas/plantas posiblemente fueron generadas por las naturales. Mientras la exposición en tiempo alto muestra efectos puntuales mostrando lesiones inducidas de acuerdo al incremento de las concentraciones y al tiempo que está expuesto las semillas. (Devi y Mullainatha, 2012) menciona que el aumento de las concentraciones de EMS puede dañar el embrión o afectar los procesos fisiológico y biológico de la planta.

3.5.3 Alteración morfológica por efectos de radiación gamma

Planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma presentaron alteraciones en la forma de hojas, coloración de las hojas y funcionamiento de tallo. A continuación, se detalla las observaciones realizadas en los diferentes órganos:

A) Forma de hoja

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferente concentraciones de radiación gamma de (entre 0 a 900 Gy). En el (Figura 30), muestra diferencias entre el testigo T0 (0 Gy) con 3,5% de hojas irregulares y los tratamientos con dosis de radiación T1 500 Gy al T4 650 Gy se observa el aumento en el porcentaje de la alteraciones en la forma de hojas entre 47 a 48%. Donde la dosis de 800 y 900 Gy no generó alteraciones en la forma de hojas debido a la no sobrevivencia de la plántula por la letalidad de la dosis, ya que la

alta intensidad de radiación provocó la muerte y posterior pudrición de las semillas.

Las dosis altas de rayos gamma tienen un gran potencial en alterar los rasgos de la planta a nivel celular debido a que su longitud de onda de alta frecuencia tiene fotones altos que causan daños a la célula induciendo variantes a nivel celular como la forma de las hojas.

(Tara y Dnyansagar, 1979) afirmaron que los cambios en la forma de las hojas se debían a aberraciones cromosómicas, inducidas por mutagénicos químicos y radiación ionizante.

B) Coloración en las hojas

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación gamma de (entre 0 a 900 Gy). Mostrando que existen diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos en estudio (Figura 31); el porcentaje de plantas por lo menos una hoja clorótica en el testigo 0 Gy reporta un 0%, mientras que para los tratamientos con radiación varió entre 45 a 85%, observándose un incremento en el porcentaje de plantas con una hoja clorótica a medida que se disminuye la dosis de radiación gamma. Donde la dosis de 800 y 900 Gy no generó coloración en hojas debido a la no sobrevivencia de la plántula por la letalidad de la dosis, ya que la alta intensidad de radiación provocó la muerte y posterior pudrición de las semillas.

La coloración de las hojas de la planta tratadas demostró una relación bien definida a través de los efectos inhibitorios en los rasgos fisiológicos según las dosis, de la cual se observó menos coloración de hojas con el incremento de las concentraciones.

Estudio realizado en (*Secale cereale* L.), aplicando dosis bajas de irradiación en semillas de centeno de la variedad "Sorom"; explican que las mutaciones dadas hubo efectos inhibitorios en la coloración de hojas fue en general mayor en dosis de 150 Gy (Enrique, 2015).

Trabajos realizados por (Sadashiv,*et al.*, 2012), reporta que a dosis de 100 Gy se vio afectado las semillas de *Macrotyloma uniflorum*) en la coloración de hojas.

En un trabajo realizados en (*Secale cereale* L.), se mostró que concentraciones de 100 Gy obtuvieron efecto en la coloración de hojas (Soralus, 2015).

C) Funcionamiento de tallo

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferente concentraciones de radiación gamma de (entre 0 a 900 Gy). Mostrando que no existe diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos en estudios, pero diferente numéricamente entre ellos (Figura 32). Donde se obtuvo que la dosis de 600 Gy obtuvo mayor fusión del tallo en comparación con los demás tratamientos con radiación.

Las alteraciones morfológicas a través de los rayos gamma tienen efecto inhibitorio, mostrando alteración en la planta por medio de los efectos mutagénicos provocado en el sistema fisiológico, causando daños a la célula induciendo variantes a nivel celular como forma de tallo. Donde se observa que a dosis de 600 Gy obtuvo mayor funcionamiento de tallo en comparación con los demás tratamientos con radiación

D) Longitud de raíz

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación Gamma (entre 0 a 900 Gy), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 33); mostrando un resultado alto en la longitud de raíz en la dosis de 500 Gy con un promedio (30,22 cm), que fue superior al resto en los resultados obtenidos. El tratamiento (0 Gy–testigo) con 28,68 cm y la dosis de 550 Gy con 27,18 cm de promedio en longitud de raíz ocupan el segundo lugar en los resultados. Mientras las dosis de 600 y 650 Gy .mostraron igualdad estadísticamente pero diferentes numéricamente con (24,92 y 23,96 cm). Donde las dosis de 700 y 750 Gy, se observó que la radiación a alta frecuencia afectó a la longitud de raíz produciendo plantas enanas y raíces reducidas con promedio de bajo de (10,48 y 8,33 cm). En

semillas tratadas con dosis de 800 y 900 Gy, no mostró ningún promedio en longitud de raíz, se afirma que a dosis altas inhiben el crecimiento de la planta.

Los resultados obtenidos de esta investigación indican que para la longitud de raíz se generó un efecto congruente frente al incremento de las dosis de radiación gamma en dosis de 500 Gy. Esto indica que las radiaciones tuvieron un efecto inhibitorio para las semillas irradiadas, en donde se muestra que las semillas expuestas a dosis más altas inhiben el desarrollo fisiológico de la planta.

Estudios realizados en (*Lepidium sativum* L.) demuestran que las semillas expuestas a dosis altas 70 y 80 Gy produjeron plantas enanas con raíces reducidas, por efecto inhibitorio de los rayos gamma (Abdul *et al.*, 2010). Por otro lado (Shakoor *et al.*, 197 y Khalil *et al.*, 1986), atribuyeron que la disminución de la longitud de tallos y raíces a dosis más altas de rayos gamma produce una reducción de la actividad mitótica, reducida en tejidos meristemático y la humedad reducida en semillas.

Trabajos realizados en semillas de garbanzos, las plantas tratadas con 200 Gy pueden tener un aumento significativo en la longitud de raíz, donde a 400 Gy se muestra depresión evidente en longitud de raíz (Toker *et al.*, 2005).

E) Área foliar

Los resultados obtenidos en semillas de sacha inchi tratadas con diferentes concentraciones de radiación Gamma (entre 0 a 900 Gy), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 34); A dosis (0 Gy-testigo) mostró el promedio alto en el área foliar con (39,54 cm²), superando a los tratamientos con radiación. Mientras los tratamientos con radiación en dosis de 500 Gy, se observó la disminución en el área foliar con un promedio de (31,07 cm²). A dosis de 700 y 750 Gy, mostraron mayor disminución en el área foliar con promedios bajos de (19,64 y 19,39 cm²). Donde las semillas tratadas con dosis de 800 y 900 Gy, no mostraron ningún promedio en el área foliar, se afirma que a dosis altas inhiben el crecimiento de la planta. Los resultados reportan que el tratamiento testigo (0 gray) superó en el área foliar al resto de tratamientos que fueron sometidos a concentraciones de radiación gamma. Esto indica que las radiaciones tuvieron un

efecto inhibitorio para las semillas irradiadas, en donde se muestra que las semillas expuestas a más altas dosis produjeron disminución en el área foliar. En general el desarrollo de las funciones fisiológicas es inversamente proporcional a las dosis empleadas dependiendo de la habilidad de la planta para desarrollar inhibición (Broertjes, 1972 y Eliot, 1964).

3.5.4 Alteraciones morfológicas por efectos de EMS

Planta de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS presentaron alteraciones en la forma de hojas, coloración de las hojas, meristema apical, longitud de raíz y área foliar a continuación, se detalla las observaciones realizadas en los diferentes órganos:

a) Forma de hoja

Según resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. Mostrando así que el tiempo de exposición 10 h, a 0% de concentración de EMS muestra un 43,65 % de hojas irregulares, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un alto porcentaje en la alteración en la forma de hoja con 48, 89 y 72,12 % de hojas irregulares. El tiempo de exposición de 20 h, a 0% de concentración de EMS muestra el bajo porcentaje con 40,65% de hojas irregulares, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un alto porcentaje en la alteración en la forma de hoja con 88, 49 y 94,12 % de hojas irregulares. Donde el tiempo de exposición a 30 h, con 0% de concentración de EMS muestra un bajo porcentaje con 39,35 % de hojas irregulares, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un alto porcentaje en la alteración en la forma de hoja con 49, 59 y 98,52 % de hojas irregulares. Se observa que a medida que aumenta la concentración de EMS y el tiempo de exposición provoca mayor alteración en la forma de hojas (Figura 35). Los EMS muestran una frecuencia muy puntual en forma de hojas, mostrando efectos puntuales de acuerdo al incremento de las concentraciones y al tiempo que está expuesto las semillas, causando daños a la célula induciendo variantes a nivel celular. Por la cual (Devi y Mullainatha, 2012) menciona que el aumento de las

concentraciones de EMS puede dañar el embrión o afectar los procesos fisiológico y biológico de la planta.

b) Coloración de hojas

Según resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. Mostrando así que el tiempo de exposición 10 h, y a 0% de concentración de EMS muestra un 0 % de coloración de hojas y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un bajo porcentaje en la coloración de hoja con 3,48 y 18,65 % de clorosis. El tiempo de exposición de 20 h, a 0% de concentración de EMS muestra un porcentaje bajo con 1,75% de clorosis, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron variaciones en el porcentaje de cloración de hoja con 9,35 y 66,86 % de clorosis. Donde el tiempo de exposición a 30 h, con 0% de concentración de EMS muestra un 0 % de clorosis, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron variaciones en el porcentaje de coloración de hoja que va desde 10,06 y 88,79 % de clorosis. Se observa que a medida que aumenta la concentración de EMS y el tiempo de exposición provoca mayor alteración en la coloración de hojas (Figura 36).

Los efectos del EMS se dan a través de tiempo de exposición, mostrando efectos puntuales de acuerdo al incremento del tiempo y las concentraciones causando daños a la célula, induciendo variante a nivel celular como la coloración en hojas. Otras investigaciones realizadas en (*Macrotyloma uniflorum*) reportan que la coloración de hojas fue afectada con una dosis de 0,3 % de EMS con mayor frecuencia (Dhumal *et al.*, 2012).

Trabajos similares por (Sadashiv *et al.*, 2012), reporta que a dosis de 0,2 y 0,3 % EMS con tiempo de 4 horas se vio afectado las semillas de (*Macrotyloma uniflorum*) en la coloración de hojas.

Trabajos realizados por (Arisha *et al.*, 2015) en (*Capsicum annum* L.) reporta que la coloración de hojas se vio afectado a partir de la concentración de 0,6% de EMS a un tiempo de 12 h.

c) Meristema apical

Según resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. Mostrando así que el tiempo de exposición 10 h, a 0,0 y 0,5 % de concentración de EMS muestra un bajo promedio 1,58 % de inhibición en el meristema apical, y las concentraciones de 1,5 a 2,0% de EMS mostraron alto porcentaje de inhibición en el meristema apical con 4,89 y 22,12 %. El tiempo de exposición de 20 h, a 0% de concentración de EMS mostrando un 0 % en la inhibición del meristema apical, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un alto porcentaje en la alteración del meristema apical con 3,89 y 68,35 % de inhibición.

Donde el tiempo de exposición a 30 h, con 0% de concentración de EMS muestra un 0 % de inhibición en el meristema apical, y las concentraciones de 0,5 a 2,0% de EMS obtuvieron un alto porcentaje en la alteración del meristema apical con 10,45 y 74,61 % de inhibición. Se observa que a medida que aumenta la concentración de EMS y el tiempo de exposición provoca mayor alteración en el meristema apical (Figura 37).

Se observa que el EMS muestra efectos puntuales en el meristema apical, mostrando lesiones inducidas de acuerdo al tiempo que está expuesto las semillas y las alteraciones de acuerdo a las concentraciones. Según (Tara y Dnyansagar, 1979) afirmaron que los cambios en el meristema apical se debían a aberraciones cromosómicas, inducidas por mutagénicos químicos y radiación ionizante.

d) Longitud de raíz

Los resultados obtenidos en semillas de sachá inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%), no mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. El promedio de longitud de raíz más alto se muestra en 20 y 30 h, a una concentración 1,5 y 1,0 % de EMS obteniendo promedios de 26,69 y 27,07 cm de longitud de raíz, superando a los demás tratamientos en estudio. El promedio más bajo en la

longitud de raíz se observó en el tiempo de 10 h, a una concentración 0,5 % de EMS con promedio de 20,78 cm. (Figura 38).

Los resultados obtenidos de esta investigación indican que para la longitud de raíz se generó efecto congruente frente al incremento del tiempo y las concentraciones. Esto indica que las semillas tratadas con EMS tuvieron efecto inhibitorio en los rasgos fisiológicos.

(Benjavad *et al.*, 2012), reporta que a partir de 0.25% de concentración de EMS resulto el más alto en la longitud de raíz y donde la menor parte de la longitud de raíz ha sido registrado cuando la concentración de 0,75% de EMS. Por lo tanto (Emrani *et al.*, 2011), atribuye que la longitud de la radícula también disminuye con el aumento de la concentración de EMS y el periodo de tratamiento.

e) **Área foliar**

Los resultados obtenidos en semillas de sacha inchi tratadas con diferentes concentraciones de EMS (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%) y tiempo de exposición (10, 20 y 30 h), mostraron que existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (Figura 41). Mostrando así que el tiempo exposición 10 h, a una concentración de 2,0 % de EMS, existió mayor área foliar con promedio de 55,74 cm², superando a los tratamientos con concentración de EMS y al testigo 0,0% de concentración de EMS. Donde el tiempo de exposición de 20 h, muestra que la concentración de 0,5 % de EMS, obtuvo el mayor área foliar con promedio de 55,22 cm², y las concentraciones de 1,5 a 2,0 % de EMS mostraron el menor disminución del área folia con 49,97 y 43,10 cm². Donde el testigo 0,0 % de concentración de EMS, muestra el mayor área foliar con 54,73 cm², a un tiempo de exposición de 30 h, mostrando así que las concentraciones de 1,0 a 2,0 % de EMS con promedio más bajo en área foliar con 42,73y 35,78 cm², se observa que el área foliar fue disminuyendo, mostrando un efecto directo a medida que aumenta el tiempo y las concentraciones de EMS.

Los resultados de esta variable muestran que la concentración de EMS actúa de acuerdo al tiempo de exposición en agua, aumentando la penetración de los

mutágenos que conduce a un mayor efecto sobre las actividades metabólicas, aumentando así la eficacia del EMS a concentraciones relativamente altas.

CONCLUSIONES

- Para las evaluaciones de indicadores de crecimiento vegetativo, muestra que el tratamiento testigo (0 Gy) y con los demás concentraciones de irradiación no mostraron comportamientos en la variable de germinación, frente a las semillas irradiadas. En la variable de emergencia y supervivencia generaron un descenso a partir la dosis de 500 Gy hasta 750 Gy en su capacidad fisiológica. Esta quiere decir que a medida que aumenta las concentraciones de radiación disminuye el crecimiento de la planta. Donde el tratamiento testigo (0 Gy) mostró mejor resultado para la variable; altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. En función a las semillas tratadas con radiación. La radiación 500 Gy y 550 Gy fue que generó mayor ganancia en altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. Donde los demás resultados indican que la intensidad de radiación gamma muestra efectos directo disminuyendo en la capacidad de desarrollo de planta.
- Para la evaluación de indicadores de crecimiento vegetativo, muestra que los tratamiento testigo 0% de EMS y las concentración de 0,5; 1,0; 1,5 al 2,0% de EMS, con el tiempo de exposición de 10, 20 y 30 h, no mostraron comportamientos de alteraciones en la variable de emergencia y sobrevivencia.
- Donde el tratamiento testigo (0 % de EMS) mostro mejor resultado en la variable; altura de planta y numero de hojas. En función a semillas tratadas con concentraciones de EMS, que generó mayor ganancia se tomó de acuerdo al tiempo de exposición. Donde el tiempo de 10 h a una concentración de 1,0 % de EMS se obtuvo más alto la altura de planta, y la concentración de 1,5 % de EMS se obtuvo más grueso el diámetro de tallo, donde la concentración de 2,0 de EMS, muestra mayor número de hojas en un tiempo de 10 h.
- Donde el tiempo expuesto a 20 y 30 h, se observa que a concentración de 0,5 % de EMS muestra una mayor altura de planta y mayor número de hojas. Los demás resultados indican que a media que la concentración de EMS el tiempo de exposición aumenta, se produce una disminución en la capacidad de desarrollo de la planta.

- Excepto en la variable diámetro de tallo que los resultados fueron directamente proporcional a las concentración de EMS y el tiempo de exposición.

- Las alteraciones morfológicas durante el crecimiento vegetativo de planta de sachá inchi en las diferente concentración de agentes mutagénicos, se concluye que el tratamiento testigo (0 Gy) mostró mejor resultado para el área foliar. Los tratamientos que fueron expuestos a la radiación, el que generó alteración en forma de hoja fueron las dosis de 500 a 750 Gy, mientras en la coloración de hojas se observó alteración a dosis de 500 y 550 Gy. En el fusionamiento de tallo se observó alteración a dosis de 600 Gy. La variables área foliar el que mostro mayor ganancia fue a dosis de 500 Gy. Donde los demás resultados indican que la intensidad de radiación gamma va en aumento, muestra efectos directo en las alteraciones disminuyendo en la capacidad de desarrollo de planta. Excepto en la variable longitud de raíz que los resultados fueron directamente proporcional a las dosis de radiación ocupando el más alto la dosis de 500 Gy. En comparación con el testigo y los tratamientos con radiación.

- Las alteraciones morfológicas en el agente mutagénico químico (EMS), mostraron que al aumentar las concentraciones de EMS y el tiempo de exposición se muestran alteraciones en las diferentes variables evaluadas en planta de sachá inchi. Se concluye que el tratamiento testigo (0 % de EMS) mostro mejor resultado en la variable; forma de hoja, coloración de las hojas y meristema apical. En función a semillas tratadas con diferentes concentraciones de EMS, el que generó mayor ganancia se tomó de acuerdo al tiempo de exposición y las concentraciones. Donde el tiempo de 10 h a una concentración de 1,5 y 2,0 % de EMS, se obtuvo más alteración en la variable forma de hojas. Mientras a concentración de 2,0 % de EMS se obtuvo alta alteración en las variables; coloración de hojas y meristemo apical. Donde el tiempo expuesto a 20 y 30 h, se observa que a concentración de 0,5 % de EMS muestra una mayor alteración morfológica en la variable área foliar. Mientras a concentración de 2,0% de EMS se observó mayor ganancia en la variable forma de hojas, coloración de las hojas y meristema apical. Los demás resultados indican que a media que la concentración de EMS y el tiempo de exposición aumentan, se produce una disminución en la capacidad de desarrollo de la plántula.

Mientras la variable longitud de raíz que los resultados fueron directamente proporcional a las concentraciones de EMS y el tiempo de exposición, mostrando así que el tiempo de exposición de 30 h a concentración de 1 % de EMS, mostraron mayor ganancia en comparación al testigo y a los demás concentraciones.

RECOMENDACIONES

- En cuanto a la radiación alta y baja concentración, se recomienda utilizar la concentración de acuerdo a la testa de las semillas, esto quiere decir que cuando la testa de la semilla es delgada, se aplican concentraciones bajas y cuando la testa es gruesa se utilizan concentraciones altas, de acuerdo a los pre ensayos para determinar las concentraciones a trabajar.
- Se recomienda evaluar el comportamiento en campo definitivo de las semillas tratadas con radiación gamma y metanosulfonato de etilo que obtuvieron los mejores resultados a nivel de vivero y genético en función a su desarrollo agronómico y productivo.
- Para trabajar con el reactivo metanosulfonato de etilo, se recomienda trabajar en un ambiente cerrado con una cabina extractora de gases y utilizar Tiosulfato de sodio al 10%, 2 veces por 5 minutos una solución con el objetivo de neutralizar la reacción mutagénica de cada uno de los tratamientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul, M. Asif Ur Rehman K, Habib Ahmad and Zahir M. (2010). *Gamma irradiation effects on some Growth Parameters of Lepidium sativum L.* ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. Vol. 5, NO. 1.
- Ahnstrom. D. (1995). *Estudio del efecto de la radiación gamma a nivel celular.* Journal of Agricultural and Biological Science. 22 p.
- Allende, Cruz. L. (2014). *Estudio de radiosensibilidad de pseudocereales mediante marcadores moleculares y microscopía electrónica.* Para obtener el título de biólogo, TOLUCA, MÉX. 77p.
- Amano, E. (1968). *Comparison of ethyl methanesulfonate and radiation induced waxy mutants in maize.* Mutation Research 5(1): 41-46.
- Anaya, J. (2003). *Proyecto Omega, Plan de comercialización.* Aceite y Harina Proteica de Inca Inchi. Agroindustria Amazónicas, Informe técnico. Tarapoto, Perú. 17 pp.
- Arévalo, G. (1989-1995). *Informes de resultados de investigación.* Tarapoto: Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología (Pronargeb), Estación Experimental Agraria (E. E. A.) El Porvenir.
- Arévalo, G. (1990-1995). *Colección, caracterización y mantenimiento de germoplasma de oleaginosas nativas en Tarapoto, Perú.* Informe Anual 1990-1995. Tarapoto: INIA, Pronargeb, E. E. A. El Porvenir.
- Arévalo, G. (1996). *Informes de Resultados de Investigación.* Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología. E.E. "El Porvenir". 20 p.
- Arisha, M., Liang, B.-K., Shah, S.N.M., Gong, Z.-H., & Li., D.-W. (2014). *Kill curve analysis and response of first generation Capsicum annuum L. B12 cultivar to ethyl methane sulfonate.* Genet.Mol.Res., 13, 10049–10061.
- Arisha, M., Shah, S.N.M., Gong, Z.-H., Hua, J., Li, C. & Zhang, H.X. (2015). *Ethyl methane sulfonate induced mutations in M₂ generation and physiological variations in M₁ generation of peppers Capsicum annuum L.* Front. Plant Sci. Doi:10.3389/fpls.2015.00399.
- Auerbach, C. y Robsoh, J. M. (1946). *Chemical production of mutations.* Nature 157(3984):302.

- Babaei, A.; Nematzadeh, G. A.; Avagyan, V. & 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 5(16): 2124-2130 p.
- Benjavad Talebi, A., Benjavad Talebi, A., & Shahrokhifar, B. (2012). *Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination*. American Journal of Plant Sciences, 3, 1661-1665.
- Brack, A. (1999). (*Plukenetia volubilis* L). *Diccionario Enciclopédico de Planta Útiles del Perú*. PNUD. Cuzco – Perú. 550 pp.
- Broertjes, M. (1972). *Estudio del efecto de la radiación gamma en las parte fisiológica de las platas*. Journal of Plant Sciences, 5 pp.
- Bussmann, R.W.; Tellez, C. & Glenn, A. (2009). *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru. Nordic Journal of Botany, 27:313-315.
- Bussmann. W, R., Zambrano. P, N., & Téllez, C. (2013). *Plukenetia carolis-vegae* (Euphorbiaceae) – A New Useful Species from Northern Peru. Economic Botany, 67(4), pp. 387-392.
- Cachique, D. & Vásquez, G. (2007-2008). *Avance en obtención de líneas autofecundadas de ecotipos promisorios de (Plukenetia volubilis L.) en San Martín*. Artículo técnico –PET-IIAP.
- Cachique, D. (2006). *Estudio de la Biología Floral y Reproductiva en el Cultivo de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L)*. Tesis Ing. Agrónomo, Tarapoto, Perú. Universidad Nacional de San Martín. 85p.
- Castro, P. (2007). *Sacha inchi: situación actual del cultivo y oportunidades de mercado*. Tarapoto: Dirección Regional Agraria de San Martín (DRASAM).
- Chávez, Tafur-Bello, I. (1991). *Efecto comparativo de diferentes fuentes mutagénicas en cebada (Hordeum vulgare) var. Buenavista*. Tesis UNALM – Facultad de Agronomía.
- De Robertis, E.H.F. ; Hib, J. ; Ponzio, R. (2001). *Biología Celular y Molecular*. 15a ed. Buenos Aire : El Ateneo, : 470 p.
- De Vries, H. (1901 – 1903). *Die Mutation stheorie*. Leipzig, Veit & Co.
- Devi SA and Mullainathan L (2011). *Physical and chemical mutagenesis for improvement of chili (Capsicum annum L.)*. World Appl. Sci. J. 15: 108-113.
- Dhumal, N, K. (2012). *Induction of Genetic Variability with Gamma Radiation and Its Applications in Improvement of Horsegram*. in Tech, 320 pages.

- Dhillon, M. (2014). *Efecto de la radiación en (Jathopa sp), en la germinación. African Journal of Biotechnology*, Vol. 4(59), pp. 126.
- Ehrenberg, Gustafsson, A. y Lundquist, N. (1961) *Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens*. *Hereditas*47 (20):243-282.
- Emrani, S., Arzani , A., & Saeidi, G. (2011). *Seed viability, germination and seedling growth of canola (Brassica napus L.) as influenced by chemical mutagens. African Journal of Biotechnology*, Vol. 10(59), pp. 12602-12613.
- Eliot, G. (1964). *Effects of the mutagenic of radiacion in plants. African Journal of Biotechnology*, Vol. 5(49), pp.
- Enrique, H. (2015). *Mutagen effects observable in the first generation. I. plant of (Secale cereales L.). Plant Sci.* 42: 56-42p.
- Fao/Iaea, (1991). *Plant Mutation breeding for crop improvement Proc. Of Symposium*, Viena, 1990; IAEA, Viena.
- Fowler DB and Stefansson BR (1972). *Effects of the mutagenic agent ethyl methane sulfonate on the M generation of rape (Brassica napus)*. *Can J. Plant Sci.* 52: 53-62.
- Gual H. (1977). *Mutagen effects observable in the first generation. I. plant injury and lethality, Cytological effects, II sterility In: Manual on Mutation Breeding (second edition)*. IAEA technical report series No. 119, IAEA, Vienna, Austria, pp. 85-99.
- Genter, C. E. y Brown, H. M. (1941). *X- ray studies on the field bean*. *Journal of Heredity* 32(1):39•44.
- Gillespie, L. (2007). *A revision of paleotropical Plukenetia (Euphorbiaceae) including two new species from Madagascar*. *Systematic Botany* 32 (4): pp. 780-802
- Gillespie, L.J. (1993). *A synopsis of Neotropical Plukenetia (Euphorbiaceae) including two new species*. *Systematic Botany* 18 (4): 575 – 592.
- Gunckel, J.E.; Sparrow, A.H. (1991). *Ionizing radiation: biochemical, physiological and morphological aspects of their effects on plants*. W. Ruland (Ed.), *Plant Physiolo.* XVI, Springer Verlag, Berlin. pp. 555-611.
- Gutierrez, A.; Santacruz, F.; Cabrera, J. Y Rodríguez, B. (2003). *Mejoramiento genético vegetal in Vitro*. *e-Gnosis (México) v 1 (1): 1-19*.
- Hamaker, B.R.; Valles, C.; Gilman, R.; Hardmeier, R.M.; Clark, D.; García, H.H.; Gonzales, A.E.; Kohlstad, I.; Castro, M. (1992). *Amino Acid and Fatty Acid Profiles of the Inca Peanut (Plukenetia volubilis L.)*, *Cereal Chem.* Vol. 69:461–463.

- Hazen, D. C. & Stoewesand, Y. (1980). *Resultados de análisis del aceite y proteína del cultivo de sacha inchi*. Ithaca, NY: Universidad de Cornell.
- Howell, S.H. (1998). *Genética de Planta y su desarrollo*. Cambridge Univ. Press.MA., Estados Unidos.
- Iaea (1995). *Manual on Mutation Breeding*. International Atomic Energy Agency. Technical Reports. Series N| 119. Vienna. Pp 33 – 42
- Khalil S. J., S. Rehman K. Afridi and M.T. Jan. (1986). *Damage induced by gamma irradiation in morphological and chemical characteristics of barley*. Sarhad J. Agric. 2: 45-54.
- Khan, S. and S. Goyal, (2009). *Improvement of mungbean varieties through induced mutations*. *African Journal of Plant Science*, **3 (8)**, pp. 174-180.
- Konzak, C. (1957). *The effects of ionizing radiation on plants*. III. Genetic effects of radiation on higher plants. *Quarterly Review of Biology* 32(1):27-45.
- Kumari, R. Singh, Y. (1996). *Effect of gamma rays and EMS on seed germination and plant survival of Pisum sativum L. and Lens culinaris Medic*. *Neo Bot.* 4, 25e29.
- Manco, E. (1996-2003). *Informes de resultados de investigación, Programa Nacional de Investigación en Recursos Genéticos y Biotecnología EE. "El Porvenir"*. Tarapoto, Peru.10, 1114,16 p.
- Manco, E. (2004). *Sacha Inchi, plántula prometedor de la Amazonía Peruana*. EL PORVENIR AGRARIO, INIEA – Tarapoto.1 (1):11.
- Manco, E. (2006). *INIA (Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria); Subdirección de Recursos Genéticos Y Biotecnología Estación Experimental Agraria "El Porvenir"* – Tarapoto. 8p.
- Micke, A. (1999). *Mutations in Plant Breeding. Breeding in Crop Plants: Mutations & In Vitro Mutation Breeding*; Bahar A. Siddiqui and Samiullah Khan (eds); Ludhiana, India: 1-19 p.
- Mobot, Missouri Botanical Garden. (2007). *Saint Louis, Missouri, EUA* <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>
- Moh y Nanne, H. (1968). *Radiation botany and plant genetics*. In Inter-American Institute of Agricultura! Sciences. *The Application of Nuclear Energy to Agricultura*. Turrialba, pp. 3-25.
- Novak, F.; H. Brunner. (1992). *Plant breeding: Induced mutation technology for crop improvement*. IAEA bulletin, 4: 25-33p.

- Page, D.R. y Grossniklaus, U. (2002). *The art and design of genetic screens: Arabidopsis thaliana*. Nat. Rev. Genet. 3: 124-136.
- Pdrs-Gtz y Seco (2008). *Línea base de productores en siete provincias de la Región San Martín*. Moyobamba: PDRS-GTZ / SECO.
- Peso, N. J. M. (2014). *Evaluación de la variabilidad genética inducida por radiación gamma en semillas de sachá inchi (Plukenetia voluvis L.)* Tesis Ing. Agrónomo, tarapoto, Perú. Universidad Nacional de San Martín. 85-98p.
- Predieri, S.; R.H. Zimmerman. (2001). *Pear mutagenesis: In vitro treatment with gamma rays and field selection for productivity and fruit traits*. Euphytica 3: 217–227p.
- Radhadevi, D.S., Nayar, N.K., (1996). *Gamma rays induced fruit character variations in Nendran, a varieties of banana (Musa paradisiaca L.)*. Geobios 23, 88e93.
- Rédei, G. P. y Koncz, C. (1992). *Classical mutagenesis*. En Methods in Arabidopsis research. pp: 16-82. Koncz, C.; Chua, N. H. y Schell, J. (eds). World Scientific.
- Rodríguez, A.; Corazon-Guivin, M.; Cachique, D.; Mejía, K.; Del Castillo, D.; Jean-François, R.; García-Dávila, C. (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*. Rev. peru biol., vol.17, no.3, p.325-330.
- Romero, M. Y Gómez, L. (1996). *Cultivo de la cebada en el Perú*, Universidad Nacional Agraria La Molina, Programa de Cereales. Lima – Perú. 43p.
- Sadashiv, N, B., Vikram, D, B., & Kondiram, N, D. (2012). *Induced mutations in horsegram (Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc): chlorophyll mutations, mutagenico efficiency and efectiveness*. Research Article, Vol 2: 159 pp.
- Shah, M., Gong, H., Arisha, H., Khan, A., & Tian, a. S.-L. (2015). *Effect of ethyl methyl sulfonate concentration and different treatment conditions on germination and seedling growth of the cucumber cultivar Chinese long (9930)*. Genetics and Molecular Research, 14 (1): 2440-2449.
- Shakoor A., M. Hassan, M. Saleem, M.S. Sadiq and M.A. Haq. (1978). *Radio-sensitivity in four spring wheat varieties*. The Nucleus. 15: 23-26.
- Smith, H. H. (1958). *Radiation in thc production of useful mutations*. Botanical Review 24 (1): 1-24. 1.
- Songsri, P.; Suriharn, B.; Sanitchon, J.; Srisawangwong, S.; Kesmala, T. (2011). *Effect of gamma radiation on germination and growth characterstics of physic nut (Jatropha curcas L.)*. J. Biol. Sci. 11:268-274.

- Soraluz, C. E.L. (2015). *Inducción de mutaciones en centeno (Secale cereale L.) empleando radiación gamma*, Tesis Ing. Agrónomo, Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina. 42p.
- Soukup, J. (1987). *Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros*. Editorial Salesiana. Lima – Perú. 436 p.
- Sparrow, A. H., Binnigton, J. P. y pond, V. (1958). *Bibliography on the effects of ionizing radiations on plants*. 1896-1955. New York, Brookhaven National Laboratory Associated Universities, 222 p.
- Srivastava, H.K. and B.R. Tyagi. (1986). *Effects of seed irradiation on yield and quality of essential oil in Palmarosa (Cymbopogon Martinii Stapf.) Euphytica* 35:369–380.
- Stewart C. Bushong (2010). *Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology, and Protection*.
- Suarez, E. (2006). *Mejoramiento genético mediante inducción de mutaciones*. I curso de capacitación en mejoramiento genético en arroz. Cuba. 12 p.
- Sudirgeb-Iniea, (2006). *Sub Dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología (SUDIRGEB)*, Folleto explicativo.
- Swaminathan, M. S., Chopra, V. L. y Bhaskaran, S. (1964). *Chromosome aberrations and the frequency and the spectrum of mutations induced by ethyl methanesulphonate in barley and wheat*. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 22(3):192-207.
- Tara, J.L. and Dnyansagar, V.R. (1979). *Effect of gamma rays and EMS on growth and branching in Turnera ulmifolia*. J. Cytol. Genet. 14: 118-123.
- Toker, C.; B. Uzun.; H. Canci. AND F.O. Ceylan. (2005). Effects of gamma irradiation on the shoot length of Cicer seeds. Radiat. Phys. Chem. 73(6): 365-367.
- Tropa, Castillo, S. J. (2010). *Inducción de mutaciones en quínoa (Chenopodium quinoa Willd) y selección de líneas tolerantes a imidazolinonas*. Tesis presentado como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciada en Agronomo. Valdivia – Chile.
- Valles, C. (1990). *El Sacha Inchi, Planta Nativa de Importancia Proteica y Aceitera Promisoria para la Selva Alta*. Separatas 8p.
- Valles, C. (1995). *Sacha Inchi, Importante Oleaginosa Selvática*. Pura Selva, p. 40-41.
- Vela, S. L. (1995). *Ensayos para la extracción y caracterización de aceite de sachá inchi (Plukenetia volubilis L.)*. Tesis para optar el título profesional de: Ingeniera agroindustrial en el Departamento de San Martín.

- Watkin, H.M. (1965). *Estudio la longitud de onda de la radiación gamma*. *Cytol. Genet.* 14:15p
- Yrasema, L., Natera, M., J. R., Gómez, O., & Victor. (2002). *Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol (Vigna unguiculata (L.) Walp) a radiaciones gamma*. *UDO Agrícola*, 2 (1): 22-28.
- Zaka, R.; Chenal, C.; Misset, MT. (2004). *Effect of low doses of short-term gamma radiation on growth and development through two generations of Pisum sativum*. *Sci. Total Environ.* 320:121-129. doi:10.1016/j.scitotenv.2003.08.010.

ANEXOS

- a. Alteraciones morfológicas en las hojas (clorosis) en planta de sachá inchi generadas por rayos gamma. En la (Figura 42) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 42: Hojas clorótica por efecto de rayos gamma
Foto: Deyvi. M. 2017

b. Alteración morfológica en diferentes partes de la planta de sachá inchi, tratadas con radiación gamma. En la (Figura 43) muestra las siguientes alteraciones.

1. Planta testigo sin alteración.
2. Hojas lanceoladas.
3. Bifurcación de la yema apical.
4. Inducción de brotes laterales.

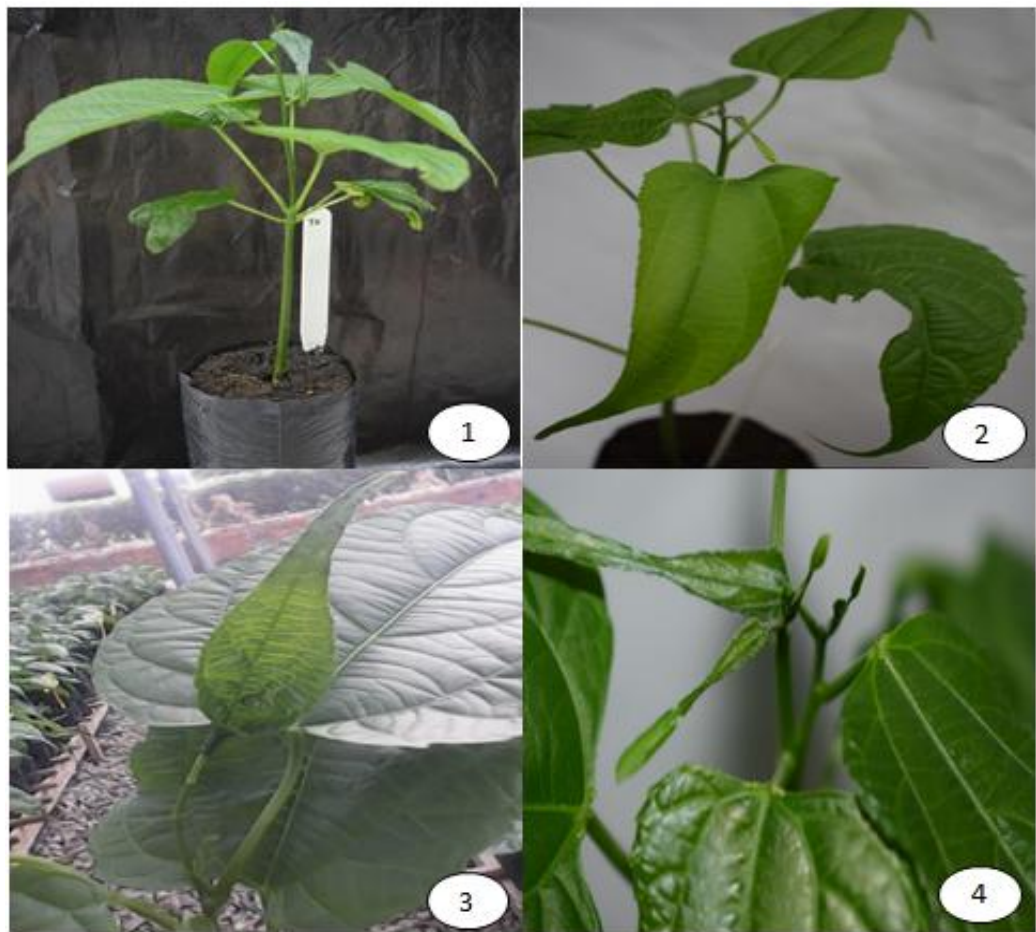


Figura 43: Alteración morfológica a partir de diferentes dosis de rayos gamma en la imagen 2, 3 y 4.

Foto: Deyvi. M. 2017

c. Alteración morfológica en el crecimiento de la plántula y hojas de sachá inchi, por efecto de radiación gamma. En la (Figura 44) muestra las siguientes alteraciones.

1. Alteración de hojas opuestas.
2. Pudrición de raíz a dosis mayores de 700 y 800 Gy.
3. Enanismo de plántula a partir de dosis de 500 y 600 Gy.
4. Engrosamiento de tallo.



Figura 44: efecto de rayos gamas en diferentes partes del crecimiento vegetativo de la plántula de sachá inchi.

Foto: Deyvi. M. 2017

- d. Alteraciones morfológicas en las hojas (clorosis) en planta de sachá inchi tratadas con EMS. En la (Figura 45) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 45: Hojas cloróticas por efecto de EMS.

Foto: Deyvi. M. 2017

e. **Alteración morfológica en diferentes partes de la planta de sachá inchi tratadas con EMS.** En la (Figura 46) muestra las siguientes alteraciones.

1. Inducción de brotes laterales.
2. Bifurcación de yemas apical.
3. Inducción de guías laterales.
4. Hojas lanceoladas por efecto del EMS

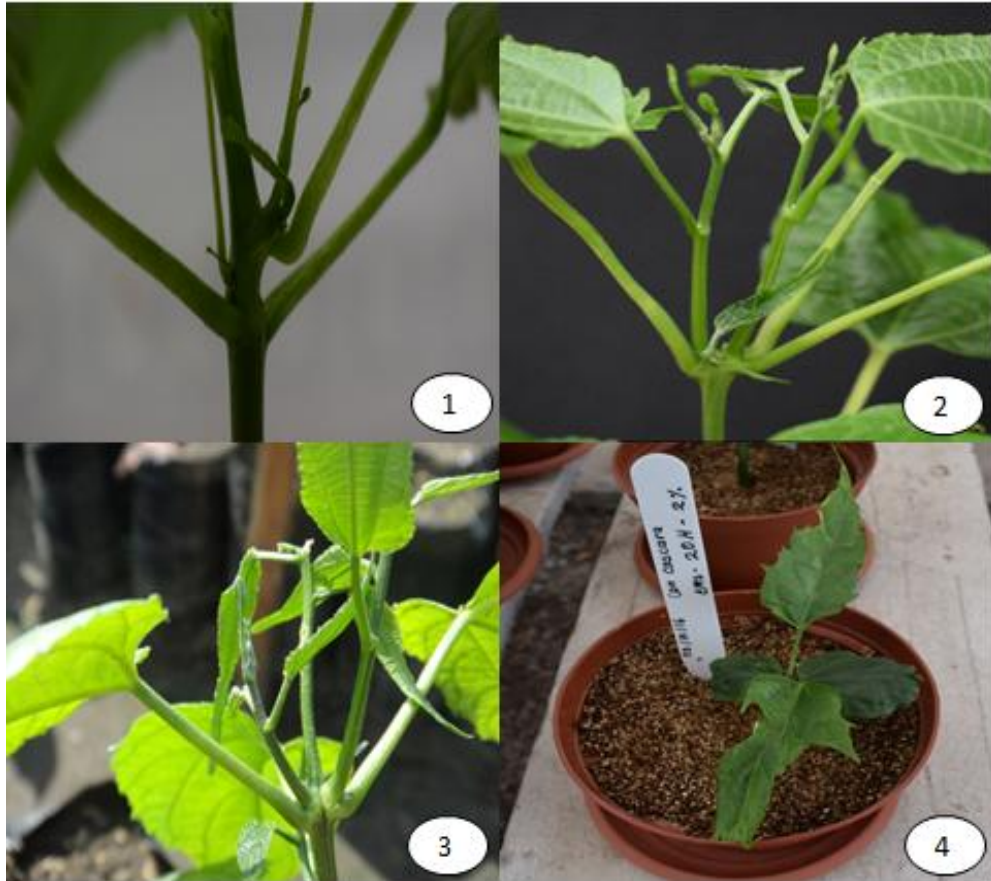


Figura 46: Efecto de EMS en la diferentes morfológica de la plántula de sachá inchi.
Foto: Deyvi. M. 2017

- f. Alteración morfológica en longitud de raíces en planta de sachá inchi generadas por rayos gamma. En la (Figura 47) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 47: Disminución de longitud de raíz en las diferentes dosis de rayos gamma.
Foto: Deyvi. M. 2017

- g. Alteración morfológica en formas de hojas en planta de sachá inchi generadas por rayos gamma. En la (Figura 48) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 48: Formas de hojas por efecto de rayos gamma en diferentes dosis.
Foto: Deyvi. M. 2017

- h. Alteración morfológica en la longitud de raíces en planta de sachu inchi generadas por EMS. En la (Figura 49) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 49: Disminución de longitud de raíz en las diferentes dosis de EMS.
Foto: Deyvi. M. 2017

- i. Alteración morfológica en formas de hojas en planta de sachá inchi generadas por EMS. En la (Figura 50) muestra las siguientes alteraciones.



Figura 50: Formas de hojas por efecto de EMS en diferentes dosis.
Foto: Deyvi. M. 2017