FORMATO DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS Y TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN, PARA OPTAR GRADOS ACADÉMICOS Y TÍTULOS PROFESIONALES EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL - UNASAM

Conforme al Reglamento del Repositorio Nacional de Trabajos de Investigación – RENATI.
Resolución del Consejo Directivo de SUNEDU Nº 033-2016-SUNEDU/CD

1. Datos del Autor:

Apellidos y Nombres: Quiñones Trejo Robert Adrián

Código de alumno: 122.0103.348 Teléfono: 929028149

Correo electrónico: robert.quino14@gmail.com DNI o Extranjería: 70576827

2. Modalidad de trabajo de investigación:

( ) Trabajo de investigación ( ) Trabajo académico

( ) Trabajo de suficiencia profesional (x) Tesis

3. Título profesional o grado académico:

( ) Bachiller (x) Título ( ) Segunda especialidad

( ) Licenciado ( ) Magister ( ) Doctor

4. Título del trabajo de investigación:
"DETERMINACIÓN DEL NÚMERO CROMOSÓMICO DE 4 ECOTIPOS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ-2018".

5. Facultad de: Ciencias Agrarias

6. Escuela, Carrera o Programa: Agronomía

7. Asesor:

Apellidos y Nombres: Caycho Medrano Nelly Pilar Teléfono: 943137552

Correo electrónico: pilarcaycho@hotmail.com DNI o Extranjería: 09177702

A través de este medio autorizo a la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, publicar el trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, Repositorio Nacional Digital de Acceso Libre (ALICIA) y el Registro Nacional de Trabajos de Investigación (RENATI).

Asimismo, por la presente dejo constancia que los documentos entregados a la UNASAM, versión impresa y digital, son las versiones finales del trabajo sustentado y aprobado por el jurado y son de autoría del suscrito en estricto respeto de la legislación en materia de propiedad intelectual.

Firma: ……..

D.N.I.: 70576827

FECHA: 02 / 12 / 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL
“SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO”

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

“DETERMINACIÓN DEL NÚMERO CROMOSÓMICO DE 4 ECOTIPOS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ-2018.”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Bach. ROBERT ADRIÁN QUIÑONES TREJO

ASESORA:

Ing. Mg. Sc. NELLY PILAR CAYCHO MEDRANO

HUARAZ-PERÚ

2019

ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS

Los miembros del jurado, luego de evaluar la tesis denominada: **"DETERMINACIÓN DEL NÚMERO CROMOSÓMICO DE 4 ECOTIPOS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ - 2018",** presentada por el Bachiller en Ciencias Agronomía **ROBERT ADRIAN QUIÑONES TREJO,** y sustentada el día 14 de Noviembre del 2019, por Resolución Decanatural N°481-2019-UNASAM-FCA/D, la declaramos CONFORME.

Huaraz, 14 de Noviembre del 2019

Dr. Francisco Espinoza Montesinos
PRESIDENTE

Dr. Walter Juan Vásquez Cruz
SECRETARIO

Ing. Mg. Sc. Hugo Mendoza Vilcahuaman
VOCAL

Ing. Mg. Sc. Nelly Pilar Caycho Medrano
PATROCINADOR

UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO
"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CIUDAD UNIVERSITARIA DE SHANCAYÁN TELEFAX 043 426 588 - HUARAZ - ANCASH - PERÚ

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado de Tesis que suscriben, reunidos para escuchar y evaluar la sustentación de Tesis **presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía ROBERT ADRIAN QUIÑONES TREJO**, denominado: **"DETERMINACIÓN DEL NÚMERO CROMOSÓMICO DE 4 ECOTIPOS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ - 2018"**, Escuchada la sustentación y las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

APROBADO CON EXCELENCIA

CON EL CALIFICATIVO (*)

DIECINUEVE (19)

En consecuencia, queda en condición de ser calificado APTO por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias y por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" y recibir el Título de INGENIERO AGRÓNOMO de conformidad con la Ley Universitaria y el Estatuto de la Universidad.

Huaraz, 14 de Noviembre del 2019

Dr. FRANCISCO ESPINOZA MONTESINOS
PRESIDENTE

Dr. WALTER JUAN VASQUEZ CRUZ
SECRETARIO

Ing. Mg. Sc. HUGO MENDOZA VILCAHUAMAN
VOCAL

Ing. Mg. Sc. NELLY PILAR CAYCHO MEDRANO
PATROCINADOR

(*) De acuerdo con el Reglamento de Tesis, estás deben ser calificadas con términos de: **APROBADO CON EXCELENCIA** (19 – 20), **APROBADO CON DISTINCIÓN** (17 – 18), **APROBADO** (14 -16), **DESAPROBADO** (00 – 13).

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, la salud y la sabiduría.

A mi padre: Casimiro Quiñones Cacha.
A mi madre: Esperanza Trejo Cantú.
Y en especial a mi tía: Rosa Quiñones Cacha.
A todos ellos por su gran amor, orientación y apoyo brindado, durante el transcurso de la universidad.

A mis hermanos: Abelardo, Noraha, Yoner, Ítalo, Cesar y Xiomara.
Por todo el amor y apoyo que me brindaron.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater, la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo” y a todos los catedráticos que contribuyeron en mi formación profesional.

A mi asesora la Ing. Mg. Sc. Nelly Pilar Caycho Medrano y a mí co-asesora la Ing. Mg. Sc. Amelia Wite Huaringa Joaquin, por la orientación y el apoyo brindado durante la ejecución del presente trabajo de investigación

A los miembros jurados, el Ing. Dr. Francisco, ESPINOZA MONTESINOS, Ing. Dr. Walter VASQUEZ CRUZ y Ing. Mg. Sc. Hugo MENDOZA VILCAHUAMAN, por el apoyo y orientación en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis amigos: M´gly Quiñones, Rossy Cerna, Ronaldo Rosario, Hitler Llanto, Jean Azaña y Mario Alfaro.

LISTA DE CONTENIDOS

PORTADA

ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS…….…...i

ACTA DE SUSTENTACIÓN TESIS…….ii

DEDICATORIA……...….…iii

AGRADECIMIENTO……...….iv

LISTA DE CONTENIDO…….…..v

ÍNDICE GENERAL……...vi

ÍNDICE DE TABLAS…….viii

ÍNDICE DE FIGURAS……..ix

RESUMEN……..…x

ABSTRACT……...xi

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN 1

1.1. OBJETIVOS 2

1.1.1. Objetivo general 2

1.1.2. Objetivos específicos 2

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3

2.1. ANTECEDENTES 3

2.2. USO INTEGRAL DEL TARWI 3

2.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA 4

2.4. DENOMINACIONES Y NOMBRES COMUNES DE (*Lupinus mutabilis* Sweet) 4

2.5. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN 6

2.6. VARIABILIDAD GENÉTICA 7

2.7. CITOGENÉTICA 8

2.8. LA ORGANIZACIÓN Y COMPOSICIÓN DE CROMOSOMAS 8

2.9. MORFOLOGÍA DE CROMOSOMAS 10

2.10. CONSTANTES CROMOSOMAS 11

2.11. CARIOTIPO 11

2.12. ALTERACIÓN Y CAMBIOS EN EL NÚMERO DE CROMOSOMAS 12

2.13. LA IMPORTANCIA DE LOS POLIPLOIDES EN LA AGRICULTURA..... 14

2.14. FACTORES QUE PROMUEVEN LA POLIPLOIDÍA 14

2.15. ESTUDIOS DE CROMOSOMAS EN VEGETALES 16

2.16. DIVISIÓN CELULAR 16

2.17. APLICACIONES DEL ESTUDIO DEL CICLO CELULAR 19

2.18. ETAPAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE MITÓTICO 19
2.19. ETAPAS EN EL CONTAJE DE CROMOSOMAS 21
III. MATERIALES Y MÉTODOS 24
3.1. UBICACIÓN 24
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS 24
3.3. MÉTODOS 25
3.4. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN 26
3.5. EVALUACIÓN DE DATOS 29
IV. RESULTADOS 31
4.1. ÍNDICE MITÓTICO 31
4.2. NÚMERO DE CROMOSOMAS 32
V. DISCUSIONES 33
5.1. ÍNDICE MITÓTICO 33
5.2. NÚMERO DE CROMOSOMAS 33
VI. CONCLUSIONES 34
VII. RECOMENDACIONES 35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 36
IX. ANEXO 39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de leguminosas (g/100g)..... 4
Tabla 2. Principales características de grano y rendimiento de los ecotipos de tarwi. 5
Tabla 3. Principales características agronómicas de los ecotipos Andenes y Yunguyo. 6
Tabla 4. Porcentaje de cada fase en la división celular..... 31
Tabla 5. Variación del índice mitótico..... 31
Tabla 6. Número de cromosomas encontrados en 12 células por cada ecotipo..... 32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ecotipos de tarwi, **a.** Andenes, **b.** Yunguyo, **c.** Cholo fuerte y **d.** Ecotipo local. Los ecotipos **a, b y c**, procedentes de PLGO (Programa de leguminosas de grano y oleaginosas) – LA MOLINA. 5

Figura 2. Variabilidad genética de grano de tarwi, de semillas procedentes de PLGO (Programa de leguminosas de grano y oleaginosas) – LA MOLINA. 7

Figura 3. Variación de color de la semilla y forma de grano de tarwi (Camarrena, 2012). 8

Figura 4. Estructura del ADN (Bolívar, 2011.) 9

Figura 5. Partes de un cromosoma (Thiman y Palladino, 2010). 10

Figura 6. Posición del centrómero durante la metafase y formas de cromosoma durante la anafase (Klug et al., 2013). 11

Figura 7. Ciclo celular que consta de dos fases principales (Klug et al., 2013). 16

Figura 8. Fases de la mitósis (Ordoñez et al., 2016). 19

Figura 9. Células de tarwi, en proceso de división celular. 29

Figura 10. Cromosomas del ecotipo Andenes. 30

Figura 11. Cromosomas del ecotipo Yunguyo. 30

Figura 12. Cromosomas del ecotipo Cholo fuerte. 30

Figura 13. Cromosomas del ecotipo Local (Olleros). 30

Figura 14. Fases de la división celular observados a 40x, **a.** Interfase, **b.** Profase, **c.** Metafase, **d.** Anafase y **e.** Telofase. 39

Figura 15. a. y b. Campos microscópicos a 40x y 10x, respectivamente, **c.** Supervisión de la asesora de tesis. 39

Figura 16. a., b., c. y d., Supervisión de la tesis, por parte de los jurados. 40

Figura 17. Campo microscopico a 100X, para el conteo de cromosomas. 40

Figura 18. Procedimiento para la obtención de muestras para el contaje de cromosomas, **a.** Obtención de raíces **b.** Pre-tratamiento **c. y d.** Fijación **e.** Hidrólisis **f.** Tinción **g.** Squash **h.** Observación y **i.** Conteo de cromosomas. 41

“DETERMINACIÓN DEL NÚMERO CROMOSÓMICO DE 4 ECOTIPOS DE TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ-2018.”

RESUMEN

El tarwi o chocho (*Lupinus mutabilisis* Sweet), es una leguminosa oriunda de los andes sudamericanos que se le ubica desde los 1500 hasta los 3850 metros de altitud, considerado una leguminosa de gran valor nutritivo donde se encuentra una variación de 41 a 51% de proteína según ecotipos, este contenido ha hecho que sea considerado una “soya andina” para hacer frente a la desnutrición que es alta en nuestro país (Garay, 2015).

Como un paso previo en el estudio citogenética de este cultivo y para posteriores trabajos en mejoramiento genético se está investigando, en definir la hora adecuada de colección de puntas de raíces y cuantificar el número cromosómico de cuatro ecotipos de tarwi (*Lupinus mutabilisis* Sweet), mediante la técnica de aplastado de ápices radiculares. En el trabajo se encontró que la mejor hora de colección de raíces para las condiciones de Huaraz es a las 11:00 horas de la mañana, durante esta hora ocurre una mayor frecuencia de células metafásicos, encontrando un índice mitótico de aproximadamente de 41.49 % y con respecto al número de cromosomas de tarwi fue contado a través de la fijación en agua destilada helada por debajo de los 4 °C por 24 horas; seguidamente fijados en solución Carnoy (3 etanol absoluto: 1 ácido acético glacial) a 4 °C durante 24 horas, luego fueron macerados (Hidrólisis), en ácido clorhídrico 1N a 60 °C por 20 minutos y finalmente teñidos con aceto-orceína por 24 horas a ambientes del laboratorio. El recuento cromosómico se llevó acabo en un microscopio óptico a un aumento final de 10X x 100X.

En los 4 ecotipos Yunguyo, Andenes, Cholo fuerte y el ecotipo local, el número de cromosomas más frecuentes encontrados fueron de 48 cromosomas metafásicos para los 4 ecotipos evaluados, respectivamente no encontrando variación entre ecotipos.

Palabra clave: Cromosomas, células metafasicos, ecotipos.

"DETERMINATION OF THE CHROMOSOMIC NUMBER OF 4 ECOTIPOS OF TARWI (*Lupinus mutabilis* Sweet), HUARAZ-2018."

ABSTRACT

The tarwi or chocho (*Lupinus mutabilisis* Sweet), is a legume native of the South American Andes that is located from 1500 to 3850 meters of altitude, considered a legume of great nutritional value where a variation of 41 to 51% of protein according to ecotypes, this content has made it considered an "Andean soy" to cope with malnutrition that is high in our country (Garay, 2015).

As a previous step in the cytogenetic study of this crop and for further work in genetic improvement, research is being carried out, in defining the appropriate time for root tip collection and quantifying the chromosomal number of four tarwi ecotypes (*Lupinus mutabilisis* Sweet), by the technique of crushing root apices. In the work it was found that the best root collection time for Huaraz conditions is at 11:00 a.m., during this time a higher frequency of metaphaic cells occurs, finding a mitotic index of approximately 41.49% and with respect to the number of tarwi chromosomes, it was counted through fixation in distilled ice water below 4 ° C for 24 hours; then fixed in Carnoy solution (3 absolute ethanol: 1 glacial acetic acid) at 4 ° C for 24 hours, then they were macerated (Hydrolysis), in 1N hydrochloric acid at 60 ° C for 20 minutes and finally stained with aceto-orcein for 24 hours to laboratory environments. The chromosomal count was carried out in an optical microscope at a final magnification of 10X x 100X.

In the 4 ecotypes Yunguyo, Andenes, Cholo fuerte and the local ecotype, the number of most frequent chromosomes found was 48 metaphase chromomas for the 4 ecotypes evaluated, respectively finding no variation between ecotypes.

Keyword: Chromosomes, metaphase cells, ecotypes.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente uno de los problemas más preocupantes es la desnutrición y el Perú no es ajeno a este problema; la búsqueda de especies de importancia para la seguridad alimentaria ha devuelto el interés de estas especies que quedaron relegados tanto en su cultivo como en la investigación (Chirinos et al., 2015). El tarwi o chocho (*Lupinus mutabilisis* Sweet) es una leguminosa oriunda de los andes sudamericanos con gran valor nutritivo, considerado como la "soya andina", donde los granos están constituidos por proteínas y aceites, donde en más de 300 genotipos diferentes muestra que la proteína varia de 41 a 51% (Garay, 2015).Por esta razón ha recibido bastante atención por los fitomejoradores, donde pueden contribuir mejorando el grado de sostenibilidad de los sistemas agropecuarios de producción, mediante el desarrollo de genotipos adaptados a nuevos requerimientos ambientales y a nuevas demandas del mercado de consumo (Camarena et al., 2009). Para hacer mejoramiento es necesario tener la variación genética que es un requerimiento básico para el cultivo y especialmente para el proceso de mejoramiento genético (Chirinos et al., 2015). El Perú es uno de los países con mayor diversidad, donde se ha encontrado más de 70 especies de *Lupinus* que han sido colectados desde la zona yunga hasta la ceja de la selva (Tapia, 2015). Si bien la diversidad genética representa el cofre del tesoro de los rasgos potencialmente valiosos (…), está amenazada y se requiere esfuerzos especiales para su conservación tanto *in-situ* como *ex-situ,* así como desarrollar una capacidad sólida para utilizar en particular en el mundo en desarrollo (FAO, 2010). Por esto se requiere explorar y evaluar la variabilidad entre y dentro de la población, es de gran significancia para su mejoramiento y conservación, como un paso previo a esto, se ha realizado el presente trabajo, en determinación del número cromosómico de 4 ecotipos de tarwi, para que sirva como una pequeña base en el mejoramiento genético (hibridaciones, inducir la formación de poliploidía y para su conservación en bancos de germoplasma). Ya que estos y los recursos fitogeneticos son la materia esencial para ayudar a los agricultores a responder ante el cambio climático y es el cimiento para la producción y la base biológica para la seguridad alimentaria (FAO, 2010).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Determinación del número cromosómico de 4 ecotipos de tarwi (*Lupinus mutabilisis* Sweet), mediante la caracterización citológica.

1.1.2. Objetivos específicos

- Definir la hora adecuada para la observación de estadios metafásicos en raíces de tarwi (*Lupinus mutabilisis* Sweet).
- Determinar el número de cromosomas de cada ecotipo de tarwi (*Lupinus mutabilisis* Sweet).

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANTECEDENTES

El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), ha sido cultivado y domesticado desde épocas preincas, como la cultura Chavín quienes apreciaron y valoraron este por la magnífica generosidad de sus propiedades, formando la parte fundamental de la dieta andina, tal cual, como la quinua y el maíz, además dieron múltiples usos y aplicaciones a los alcaloides del tarwi (TARWI CORP, 2018). El género *Lupinus* de especies cultivadas y silvestres, ha sido ampliamente estudiado, a nivel mundial, incluso se ha creado la Asociación Internacional de Investigadores de Lupinus, que ha organizado diferentes eventos mundiales y conferencias internacionales que ya tienen más de 20 años de antigüedad, el primer congreso se realizó en Lima y Cusco en 2001 (Tapia, 2015). El número somático predominante registrado para los *Lupinus* de américa del norte es 2n=48, mientras que los números menos comunes citados son 2n=24, 36, 40 y 96, las únicas especies de américa del sur estudiadas citológicamente son *L. mutabilis* dulce con 2n=36 y *L. russellianus* C. P Smith con 2n=36 (Perisse et al., 2000). Las especies del viejo mundo se presentan en diferentes grupos citotaxonomicos (2n=52,50,42,40,38,36 y 32), alguno de ellos monoespecifico (Gladstones (como se citó en Camarena et al., 2012)). A si mismo reportaron que en 22 accesiones de 16 especies de *Lupinus* provenientes de Bolivia, Ecuador y Perú, tuvieron 2n=48 cromosomas a excepción de *L. berlandieri* con 2n=36 cromosomas. La información citogenética en las especies americanas, señala que alrededor de 50 especies norteamericanas analizadas tienen 2n=48 cromosomas, ocasionalmente 2n=96, generalmente poliploides (Camarena et al., 2012).

2.2. USO INTEGRAL DEL TARWI

Los granos (46% de proteína), las raíces (incorporan hasta 250 kg de nitrógeno/ha), los tallos y las vainas secas (leña), alcaloides (biocida), en rotación (controla los nematodos) y es una leguminosa nutraceutica (nutre y cura) (Garay, 2015).

Tabla 1. Composición química de leguminosas (g/100g)

Nutrientes	Tarwi	Soya	Frijol
Proteína	44.3	33.4	22
Grasa	16.5	16.4	1.6
Carbohidratos	28.2	35.5	60.8
Fibra	7.1	5.7	4.3
Ceniza	3.3	5.5	3.6
Humedad	7.7	9.2	12

Fuente: INCAP, 1975, (citado por Garay, 2015)

2.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Clasificación taxonomía del tarwi (Tapia, 2015)

Nombre científico	:	*Lupinus mutabilis* Sweet.
Orden	:	Fabales
Suborden	:	Leguminosae
Familia	:	Fabaceae
Subfamilia	:	Faboideae
Tribu	:	Genisteae
Género	:	*Lupinus*
Especie	:	*Lupinus mutabilis* Sweet.
Nombre común	:	Tarwi, Chocho

2.4. DENOMINACIONES Y NOMBRES COMUNES DE (*Lupinus mutabilis* Sweet)

En los siglos XVI y XVII, los españoles le denominaron altramuz o chocho por su similitud con una variedad de *Lupinus albus sp*. Cultivada en Europa. En Perú, en la provincia de Azángaro – Puno lo denominaron: cequella, lauris, tauri, tarwi, travi, Sauri, etc. en el sur (Antúnez de Mayolo (como se citó en Camarena et al., 2012)). Lo reportan como: ullush, talwish, tauri, talhue, chuchis muti, chocho, chochos, *lupinu* (Brack y Krenmayr (como se citó en Camarena et al., 2012)).

Tabla 2. Principales características de grano y rendimiento de los ecotipos de tarwi.

Ecotipo o Accesión	Color de grano	Forma de grano	Tamaño de grano	Peso de 100 semillas	Característica
Andenes	Blanco	Semi-aplanado	Mediano-grande	23.12g	Alto rendimiento
Yunguyo	Blanco	Lig. ovoide	Mediano	26.20g	Alto rendimiento y precoz
Cholo fuerte	Blanco	Lig. ovoide	Mediano-grande	27.60g	Alto rendimiento y precoz
Ecotipo local	Blanco	ovoide	Pequeño- mediano	18.34 g	Bajo rendimiento

Fuente: Citado, Garay 2015 y Tapia 2015.

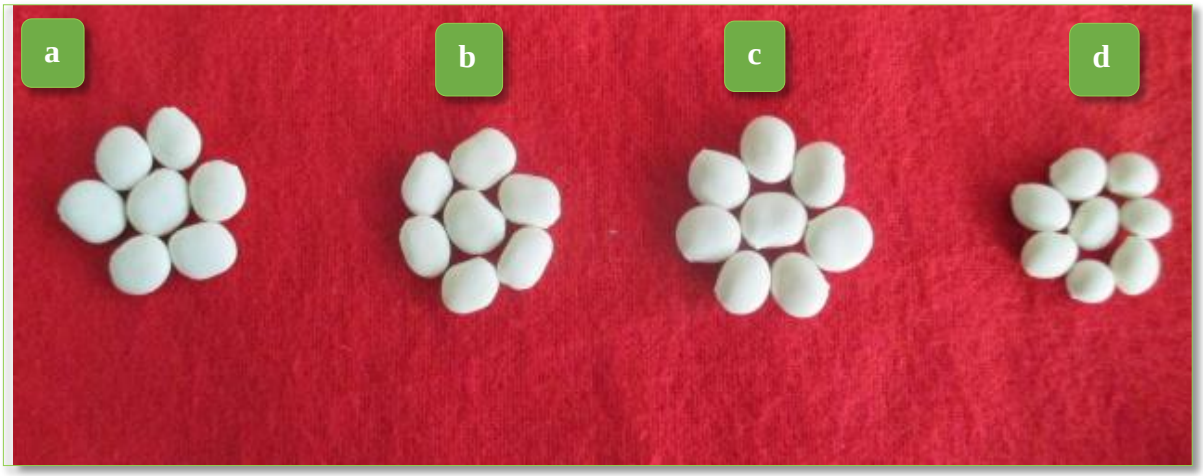


Figura 1. Ecotipos de tarwi, **a.** Andenes, **b.** Yunguyo, **c.** Cholo fuerte y **d.** Ecotipo local. Los ecotipos **a, b y c**, procedentes de PLGO (Programa de leguminosas de grano y oleaginosas) – LA MOLINA.

En la actualidad existen unas 3 o 4 variedades seleccionadas provenientes del Cusco (K´ayra), SCG-25 y de Huancayo, estación experimental de Mantaro (Hl, H6), así como en la libertad, que han obtenido rendimientos sobre los 3000kg/ha (Tapia, 2015). Así mismo afirma que líneas evaluadas en la Molina (campaña 1980-81), sobrepasan los 4Tm/ha. Estas variedades sin embargo no se han difundido adecuadamente y es difícil encontrar material puro (Tapia, 2015). A la semilla de tarwi solo se encuentra en categoría de semilla no certificada (reúne los requisitos mínimos de calidad y sanidad), debido a que no está considerado en el registro de cultivares y no cuenta con reglamente especifico (Garay, 2015).

Tabla 3. Principales características agronómicas de los ecotipos Andenes y Yunguyo.

Variedades mejorados	Andenes 80, Yunguyo y SCG-22
Adaptación	2000 a 3800 msnm
Requerimientos de lluvia	400 a 600 mm
Periodo vegetativo	210 a 240 días
Densidad de siembra	Por golpe: 35 a 40 kg/ha
Distanciamiento	Entre golpe: 0.40m y entre surco: 0.80m
Rendimiento potencial	Andenes 80: 2.5t/ha, Yunguyo: 1.8t/ha y SCG : 2 t/ha

Fuente: Garay 2015.

Los rendimientos por hectárea se consideran en un rango entre 800 y 1300 kg, que pueden variar según la zona de producción y el nivel tecnológico, teniéndose un potencial de producción sobre los 2500 kg/ha, como ocurre en las pruebas experimentales (Tapia, 2015).

2.5. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Señalan que los parientes silvestres encontrados en tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), están representados por las siguientes especies: *Lupinus cuzcensis, L. tomentosus, L. microphyllus, L. paniculatus, L. aridulus, L. ananeanus, L. condensiflorus, L. chlorolepis, L. tarapacencis, L. subferuquinous, L. dorae, L. macbrideanus, L. ballianaus, L. gilbertianus y L. eriucladus* (Jacobsen y Mujica (como se citó en Camarena et al., 2012)). Se considera que el tarwi, probablemente se desarrolló de una mutación espontanea de una o varias especies (Tapia, 2015). Sugiere que una especie muy afín al tarwi es el *Lupinus praestabilis,* una planta espontanea de flores blancas, que se desarrolló en las tierras altas de Pisac, en la región del cusco (Tapia (como se citó en Tapia, 2015)).

Proponen que el tarwi se derivó de la hibridación de *Lupinus douglasii* y *Lupinus ornatus* que son dos especies de Lupinus de Norteamérica (Kazimierski y Novak (como se citó en Tapia, 2015)). El tarwi es una planta eminentemente autogama con un porcentaje de 5 a 10% de polinización cruzada (Camarena et al., 2012). En el trabajo realizado con el museo de historia natural de chicago, ha identificado hasta 85 especies del genero *Lupinus* en el Perú (León (como se citó en Tapia, 2015)). A si mismo afirma que estas especies se pueden considerar, sinónimos debido a la alta variabilidad y a la abundancia de genes que ocurren en los andes (Tapia, 2015).

2.6. VARIABILIDAD GENÉTICA

El Perú está considerado como uno de los países con mayor biodiversidad, ya que cuenta con 84 de las 104 zonas de vida y 28 de los 32 tipos de clima que existe en el planeta (SERNANP, 2015). Dada las diferentes condiciones ecológicas de la sierra peruana, se encuentra una gran variabilidad de poblaciones de *Lupinus mutabilis* (Camarena et al., 2012). Al hacer un estudio descriptivo de la flora peruana otorga una amplia distribución ecológica del genero *Lupinus*, considerando alrededor de 20 especies que crecen en condiciones ambientales diferentes, existiendo una gran biodiversidad de biotopos que se encuentran mayormente en la vertiente occidental del Perú (Matucana y Brucher (como se citó en Camarena et al., 2012)). En el distrito de Corongo, provincia de Corongo se han registrado 10 especies del género *Lupinus*, que representa el 50% de las especies, también se encontró la especie *Lupinus aridulus* reportado hasta ahora solo en los departamentos de Cusco y Puno (Lezama, 2010). En la sierra peruana se han registrado numerosas especies silvestres de tarwi, donde la presencia de tipos silvestres de *Lupinus sp.* Constituye un generador básico de variabilidad denominado complejo cultivo-maleza (Camarena et al., 2012).

Figura 2. Variabilidad genética de grano de tarwi, de semillas procedentes de PLGO (Programa de leguminosas de grano y oleaginosas) – LA MOLINA.

Figura 3. Variación de color de la semilla y forma de grano de tarwi (Camarrena, 2012).

2.7. CITOGENÉTICA

El número de cromosomas de *Lupinus mutabilis* Sweet es de 2n = 8, X= 48 como es común en la mayoría de las especies de lupino que se distribuyen en los andes (Camarena et al., 2012). Así mismo reporta 2n=48 para *Lupinus mutabilis* Sweet (Camillo et al., 2006). En Europa estudios realizados para evaluar el potencial de *L. mutabilis* y estudiar el número cromosómico de híbridos interespecificos, determinaron 2n = 48 para *L. mutabilis* y 2n = 50 para *L. albus* (Sawicka-Sienkiewicz y Augiewicz (como se citó en Camarena et al., 2012)). Mencionan que el número básico de cromosomas del género *Lupinus* es de 8 (2n=48) y 10 (2n=48) (Castañeda y Jiménez (como se citó en Camarena et al., 2012). Así mismo se sugirió que el número básico de cromosomas es X=6 y su evolución estaba acompañado por aneuploidia (Dunn y Gladstones (como se citó en Camarena et al., 2012)).

2.8. LA ORGANIZACIÓN Y COMPOSICIÓN DE CROMOSOMAS

2.8.1. Estructura del DNA

La unidad de constitución del DNA es el nucleótido, donde está formado por una pentosa (azúcar de 5 carbonos) llamado desoxirribosa, una molécula fosfato y una base nitrogenada (Thiman y Palladino, 2010). A mismo menciona que las bases son componentes intercambiables de un nucleótido, cada nucleótido contiene una base ya sea adenina (A), timina (T), guanina (G) o citosina (C). La diferencia fundamental entre todo los ADN es la secuencia de estos cuatro tipos de nucleótidos con sus bases, A, T, G C en cada letra de cada molécula de ADN, en la cuales hay varios millones de nucleótidos (Bolívar, 2011).

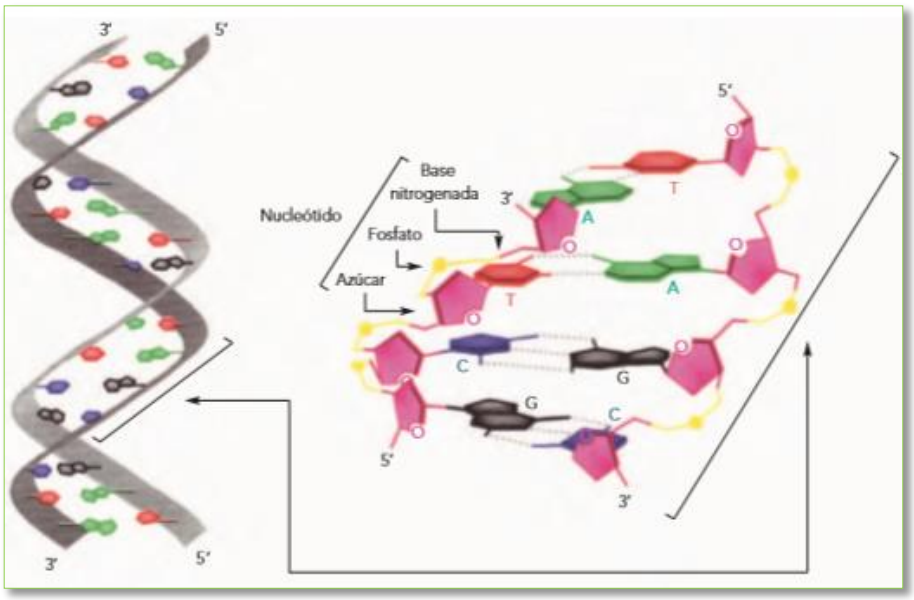


Figura 4. Estructura del ADN (Bolívar, 2011.)

2.8.2. Gen

Factor genético (una región del DNA) que ayuda a determinar una característica (Pierce, 2010). Son segmentos de moléculas de ADN que forman parte de los cromosomas y la mayoría de ellos codifican para una proteína especifica de ese gen (Bolívar, 2011).

2.8.3. Cromátida

Es una clase especial de proteína, para formar cromosomas densamente empaquetados, este complejo de DNA e histona se denomina cromátida, que es el material que forma cromosomas (Pierce, 2010). En eucariotas cada cromosoma está formado por dos estructuras en forma de finas varillas de DNA llamada cromátidas hermanas, que son réplicas exactas la una de la otra, copiada durante la síntesis de DNA (Thiman y Palladino, 2010).

2.8.4. Centrómero

Es el punto de anclaje de los microtubulos del huso, que son los filamentos responsables del movimiento de los cromosomas durante la división celular (Pierce, 2010). Es una región estrecha del cromosoma formada por DNA y proteínas entrelazadas que mantienen a las dos cromátidas hermanas unidas entre sí y que contienen proteínas que unen los cromosomas a orgánulos llamados microtúbulos (Thiman y Palladino, 2010).

2.8.5. Cromosoma

Son paquetes de DNA muy enrollado y condensado (Thiman y Palladino, 2010). Para condensar una longitud tan inmensa DNA dentro de este pequeño volumen cada molécula de DNA debe enrollarse una y otra vez y condensarse en forma compacta alrededor de una histona hasta constituir los cromosomas en forma de bastón (Pierce, 2010).

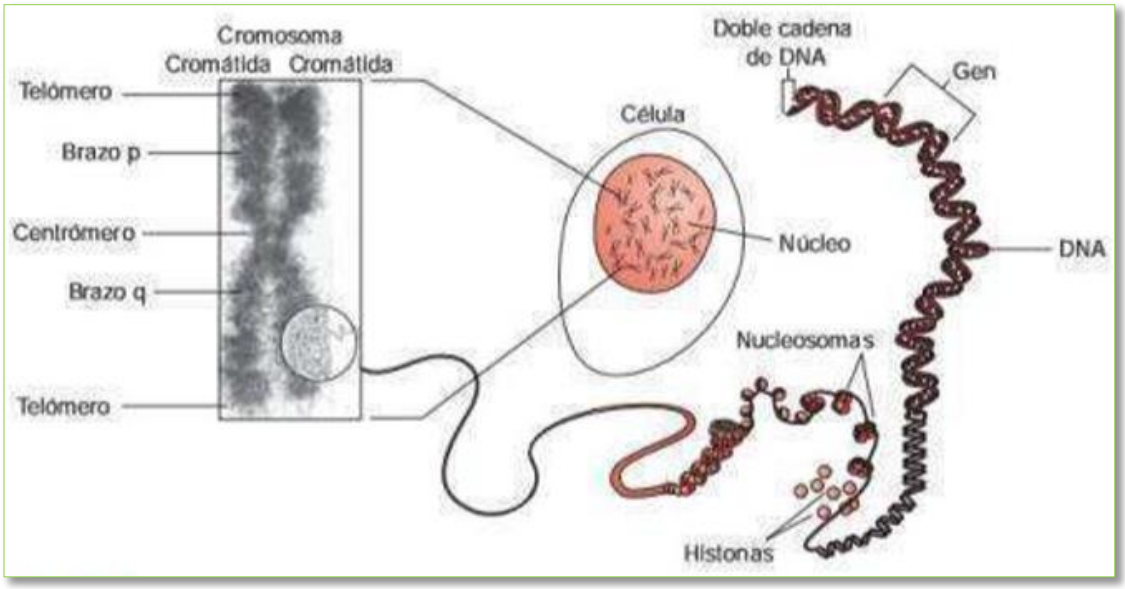


Figura 5. Partes de un cromosoma (Thiman y Palladino, 2010).

2.9. MORFOLOGÍA DE CROMOSOMAS

Cada cromosoma funcional posee un centrómero en el que se insertan las fibras del huso y dos telómeros que le proporcionan estabilidad (Pierce, 2010). Así mismo afirma que los cromosomas se clasifican en cuatro tipos básicos.

Metacéntrico: el centrómero se ubica cerca del medio, por lo que el cromosoma posee dos brazos de la misma longitud.

Submétacentrico: el centrómero esta desplazado hacia un extremo, lo que produce un brazo largo y un brazo corto, donde el brazo corto se designa con la letra (p) y el brazo largo (q).

Acrocéntrico: el centrómero está cerca de un extremo, lo que produce un brazo largo en ese lado y un botón o satélite en el otro extremo.

Telocéntrico: el centrómero está en el extremo del cromosoma o muy cerca a él.

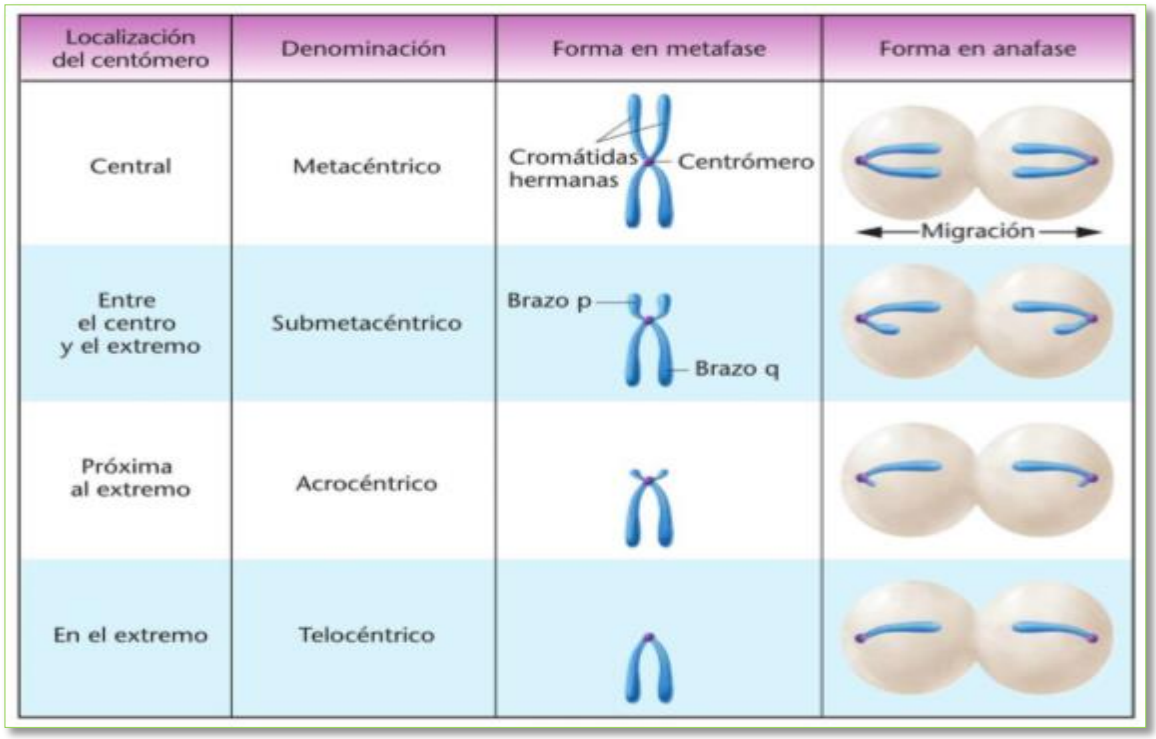


Figura 6. Posición del centrómero durante la metafase y formas de cromosoma durante la anafase (Klug et al., 2013).

2.10. CONSTANTES CROMOSOMAS

Son las características que individualizan a los cromosomas de una especie, tales constantes ponen de manifiesto en el cromosoma durante la división celular especialmente en la metafase y los más importantes son: número, dimensiones relativas, morfología, entre otros (Blas, 1997). También la propiedad importante de los cromosomas es el hecho de que casi siempre el número de cromosomas en las células es constante a nivel del individuo y entre todos los individuos de la misma especie (Valladolid et al, 2004).

2.11. CARIOTIPO

Se denomina cariotipo al juego completo de cromosomas que posee un organismo, que suele representarse como un diagrama de los cromosomas metafísicos alineados en orden descendente según su tamaño (Pierce, 2010). En base a la morfología de los cromosomas es posible aprecias algunos cromosomas similares, lo que permite utilizar este cromosoma en calidad de marcadores, así mismo las características cariomorfológicas evidenciadas para cada especie permiten (Talledo y Escobar, 1993).

- El determinar el grado de simetría de las especies estudiadas.
- El contar con criterios taxonómicos adicionales para la clasificación de las mismas.
- El esclarecer su estrategia evolutiva y ubicación filogénica.

2.12. ALTERACIÓN Y CAMBIOS EN EL NÚMERO DE CROMOSOMAS

En la naturaleza, es común encontrar alguna variación en el número de juegos de cromosomas (ploidía), además se estima que un tercio de las angiospermas (plantas con flores), tienen más de dos juegos de cromosomas (poliploides) (Stansfield, 1998). Las mutaciones cromosómicas pueden agruparse en tres categorías básicas como reordenamiento cromosómico, aneuploidia y poliploidías (Pierce, 2010).

a) Reordenamiento cromosómico

Son mutaciones que cambian la estructura de los cromosomas individuales y los cuatro tipos básicos de reordenamiento son la duplicación, la deleccion, la inversión y la translocación (Pierce, 2010).

- ❖ Duplicación cromosómica: duplicación de un segmento cromosómico.
- ❖ Delección cromosómica: delección de un segmento cromosómico.
- ❖ Inversión cromosómica: segmento cromosómico invertido 180°.
- ❖ Translocación cromosómica: movimiento de un segmento cromosómico, hacia un cromosoma no homologo o a otra región del mismo cromosoma.

b) Aneuploidía

Pueden presentar variaciones en el número cromosómico que no incluyan al juego de cromosomas completos, sino solo la parte del complemento (Stansfield, 1998). Así mismo se indica que es un cambio en el número de cromosomas del individuo y considera cuatro tipos de condición aneuploides relativamente comunes en individuos diploides (Pierce, 2010).

1. Nulisomía

Es la perdida de ambos miembros de un par de cromosomas homólogos y se representa como 2n – 2 (Pierce, 2010).

2. Monosómico

Los organismos diploides que han perdido un cromosoma de un solo par, son monosomicos con la formula genómica 2n – 1 (Stansfield, 1998).

3. Trisómico

Los organismos diploides que tienen un cromosoma extra están representados por la formula 2n + 1 (Stansfield, 1998).

4. Tetrasómico

Es la ganancia de dos cromosomas homólogos representado como 2n + n (Pierce, 2010).

c) Poliploidía

La poliploidía es común en las plantas y se considera un mecanismo fundamental en la evolución de especies nuevas y alrededor de 40%de las especies de plantas florales y entre el 70 y el 80% de las hiervas son poliploides, entre las que se cuentan muchas plantas importantes para la agricultura (Pierce, 2010). Este término puede ser aplicado a cualquier célula con más de 2n cromosomas, por lo general no se encuentran niveles de ploidía más alto que los tetraploides en las poblaciones naturales, pero alguno de los cultivos más importantes son poliploides como el trigo del pan común es hexaploide (6n), algunas fresas son octaploides (8n) (Stansfield, 1998).

Se considera también dos tipos importantes de poliploide, como la autopoliploidía, en la que todos los conjuntos de cromosomas pertenecen a la misma especie y la alopoliploidía, en las que los conjuntos de cromosomas pertenecen a dos o más especies (Pierce, 2010).

- Monoploide

Un juego de cromosomas (n) se encuentra de manera característica en el núcleo y comúnmente más pequeños y menos vigorosos que los diploides normales, se conocen plantas monoploides, pero generalmente son estériles (Stansfield, 1998).

- Triploide

Pueden originarse tres juegos de cromosomas (3n) por la unión de un gameto monoploide (n), con un gameto diploide. Debido a la esterilidad que caracteriza a los triploides, estos no se encuentran comúnmente en las poblaciones naturales (Stansfield, 1998).

- Tetraploide

En las células del cuerpo pueden surgir cuatro complementos de cromosomas (4n) por la duplicación somática del número de cromosomas, la duplicación se lleva a cabo

en forma espontánea o puede ser inducida con frecuencia alta por exposición a agentes químicos como el alcaloide colchicina (Stansfield, 1998). A si mismo indica que los tetraploides se producen también por la unión de gametos diploides no reducidos (2n).

2.13. LA IMPORTANCIA DE LOS POLIPLOIDES EN LA AGRICULTURA

Cambios en volumen celular, resultan en cambios en el radio superficie-volumen, los cuales alteran la tasa de procesos fisiológicos y metabólicos que dependen del sistema regulatorio cuidadosamente balanceados (Alcántar, 2014). Los autopoliploides son muy infértiles, pero este mismo hecho a veces hace el desarrollo de una masa vegetativa extraordinaria y la aparición de órganos de mayor tamaño que los de los diploides, fenómeno que se conoce como gigantismo (Cubero, 2003). Algunos triploides muestran un fenotipo más robusto que su contraparte diploide, tienen con frecuencia hojas, flores y frutos más grandes (gigantismo) (Stansfield, 1998).

2.14. FACTORES QUE PROMUEVEN LA POLIPLOIDÍA

2.14.1. Evolución

La poliploidía reside en que constituye una fuerza evolutiva, no solo con las plantas, en las cuales junto con la hibridación ha moldeado la aparición y distribución de cientos de especies (Alcántar, 2014). La poliploidía natural o espontanea se da en casi todas las especies, aunque en baja frecuencia en la gran mayoría de los casos, parece que la naturaleza estuviera probando continuamente, tal prueba siempre lo ha realizado (Cubero, 2003). Así mismo, el futuro evolutivo de los nuevos poliploides depende de su éxito en establecer poblaciones en comunidades biológicas, para así mantener, diversificar y tenga más posibilidades de adaptarse al medio ambiente y para esto los poliploides tienen que cumplir con 3 requerimientos como lo indica posteriormente (Alcántar, 2014).

1. Deben llenar un nicho ecológico diferente al de sus progenitores y/o poseer una gran capacidad competitiva.
2. Tener mejor capacidad para la colonización y reproducción, para poder dispersarse y ocupar habitas adecuados.
3. Tienen que tener suficiente variación genética en su población para cambios evolutivos consecuentes. Factores externos e internos están involucrados tanto en el origen,

diversificación y como en el establecimiento de nuevos poliploides (Grant citado por Blas, 1997).

2.14.2. Hibridación

La gran diversidad, como fuente principal está en la mutación, acompañada por recombinación, segregación, deriva genética y selección (Cubero, 2003). La poliploidía también puede surgir a través de la polispermia o de la hibridación interespecifica (entre especies) (Alcántar, 2014). La existencia de especies diploides llevando diferentes genomas o subgenomas (Grant citado por Blas, 1997), esto es válido por que es especialmente frecuente en grupos híbridos esto se debe a que los híbridos, diploides tienen altas tasas de formación de gametos no reducidos (Otto citado por Alcántar, 2014). La hibridación natural entre estas especies y el hábito de crecimiento perenne para incrementar los cambios de duplicación somática como una compensación parcial en plantas anuales de vida corta (Grant citado por Blas, 1997). Además, afirma que la reproducción autogama incrementa la unión de gametos no reducidos.

2.14.3. Medio ambiente

La poliploidía tiene un papel importante en la especiación simpátrica (que ocurre dentro de la misma región geográfica) y en menor escala en la especiación alopátrica (que ocurre por medio de barreras geográficas) (Alcántar, 2014). Las alteraciones climáticas y cambios geográficos, de alguna manera promueven hibridaciones interespecificas y así favorecen la formación de nuevos anfiploides (Blas, 1997). Así mismo agrega que el estrés como climas severos, altas latitudes, altas elevaciones y disturbios de hábitat, en general son también factores externos que promueven la ploidia. El estrés como climas severos, mencionado anteriormente puede ser un factor directo, en la llamada “duplicación somática” pueden entrar en la profase con el número de cromosomas duplicados, pero no llegan a tener un anafase normal (Alcántar, 2014), por esos cambios severos.

2.14.4. Hombre

El número y densidad de especies domesticadas en unos y otros lugares es función de la actividad humana adaptado al medio ambiente donde vive (Cubero, 2003). Además, afirma que el ciclo siembra de granos cosechados-siembra-siembra de granos cosechados crea una fortísima presión de selección que tiene como consecuencia hacer pasar una especie silvestre a cultivada. Al seleccionar los especímenes de cereales y otras plantas de cosecha más alta o con

frutos de mayor tamaño, selecciono accidentalmente especímenes con mayor nivel de ploidia (Alcántar, 2014). Muchas de las frutas y cereales que se consumen actualmente son poliploides, ya sea triploide (plátano y manzana), tetraploides (papa o maíz) o bien hexaploide (trigo).

2.15. ESTUDIOS DE CROMOSOMAS EN VEGETALES

Los estudios citogenéticos pueden ser de base de proyectos para el mejoramiento y plantear estrategias de conservación *in-situ* y *ex-situ* (Burbano et al., 2011). Debido a las consideraciones, observaciones y reportadas por varios autores sobre la importancia de los estudios citológicos y genéticos (Talledo et al., 1993) indica:

- La gran variabilidad de reportes respecto al número, tamaño y forma de los cromosomas de las especies de este grupo.
- La dificultad para evidenciar cromosomas mitóticos especialmente metafísicos.
- La alteración de las características de las muestras originales del germoplasma.
- La insuficiencia de los métodos utilizados en la evaluación de su estabilidad genética.

2.16. DIVISIÓN CELULAR

Este proceso es crítico para la genética porque a través del ciclo celular las células progenitoras pasan a las células hijas las instrucciones genéticas para todas las características (Pierce, 2010). El ciclo celular consta de dos fases principales, la primera es la interfase periodo entre las divisiones celulares en el que la célula crece, se desarrolla y se prepara para su división, la segunda es la fase M (fase mitótica) es el periodo de división activa (Pierce, 2010). La interfase, frecuentemente prolongada, y la mitosis, más breve (de 1/7 a 1/10 de todo el ciclo celular) (Talledo y Escobar, 1995).

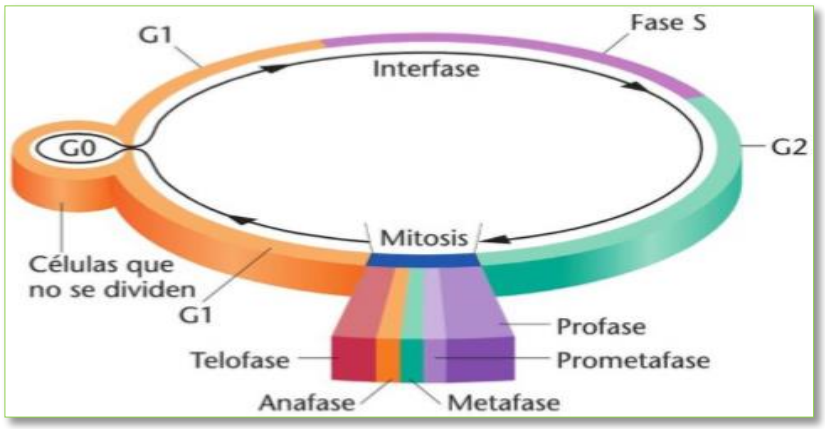


Figura 7. Ciclo celular que consta de dos fases principales (Klug et al., 2013).

2.16.1. Interfase

Este periodo pertenece a las etapas G1, S, G2 donde el genoma completo se replica una y solo una vez en cada ciclo (Orilló y Bonierbale, 2009).

G1: La célula crece y se sintetizan las proteínas requeridas para la división celular; esta fase tiene una duración típica de varias horas (Pierce, 2010). Así mismo es la fase de crecimiento celular, síntesis de proteínas y ARN (Ordoñez, Orrillo y Bonierbale, 2016). La célula se ve obligada a dividirse después de haber pasado por el punto de control G1/S, así mismo antes de pasar el punto de control, la célula puede salir del ciclo celular activo y pasar a una fase indivisible llamado G0 (Pierce, 2010).

S: Síntesis de DNA donde antes de la fase S cada cromosoma está compuesto por una cromátida y después de atravesar la fase S está compuesta por dos cromátidas (Pierce, 2010). Así mismo es la fase de síntesis de ADN, se replica el material genético dando origen a dos cadenas nuevas (Ordoñez et al., 2016).

G2: En esta fase tiene lugar varios acontecimientos bioquímicos adicionales, necesarios para la división celular (Pierce, 2010). Otra etapa de crecimiento más breve que la G1, en la cual se acumulan los productos necesarios para la división celular (Ordoñez et al., 2016). Así mismo es importante el punto de control G2/M se alcanza en G2; después de haber atravesado este punto la célula está lista para dividirse y entrar en la fase M.

2.16.2. Fase M

Es parte de ciclo celular en la cual las copias de los cromosomas celulares (las cromátidas hermanas) se separan y la célula se divide (Pierce, 2010). Además, menciona que la separación de las cromátidas hermanas para proveer un juego completo de información genética a cada una de las células resultantes, es un proceso critico en la fase M.

Profase

Los cromosomas se condensan y se forma el uso mitótico (Pierce, 2010). Donde cada cromosoma consiste en dos copias longitudinales (cromátidas hermanas), unidas por los centrómeros y el huso cromático va tomando cuerpo y muchas fibras cortas lo forman, las fibras polares, que llegan desde cada polo del huso a la región central hasta la mitad y las fibras cinetecóricas que se insertan en los cromosomas duplicados (Orilló y Bonierbale, 2009). Así mismo la profase dura, la mitad de la mitosis (Klug et al., 2013).

Prometafase

Los cromosomas están completamente condesados y con la desaparición de la envoltura nuclear, quedan en contacto con el citoplasma (Orilló y Bonierbale, 2009). Se desintegra la envoltura nuclear y los microtúbulos del huso se fijan a los cinetocoros (Pierce, 2010).

Metafase

En esta etapa, los pares de cromátida, se acortan y se alinean en un solo plano alrededor del centro de la célula, se observan más gruesas (Orilló y Bonierbale, 2009). Los cromosomas se ordenan en un solo plano el plano ecuatorial, entre ambos centrosomas (Pierce, 2010). El plano ecuatorial, también denominado placa metafísica, se encuentra en el plano medio de la célula, perpendicular al eje que establecen las fibras del huso (Klug et al., 2013). Esta es solo una etapa, por lo general bastante breve (algunos minutos) del ciclo celular, donde los cromosomas presentan su mayor grado de condensación (Talledo y Escobar, 1995).

Anafase

En esta etapa se duplican y separan los centrómeros y las cromátidas hermanas se liberan, se repelen y son engarzadas por las fibras del uso que hacen tracción sobre ella, dirigiéndose a los polos, convirtiéndose cada cromátida en un nuevo cromosoma (Orilló y Bonierbale, 2009). Los cromátidas hermanas se separan y se convierten en cromosomas individuales que migran así los polos del huso (Pierce, 2010).

Telofase

Comienza cuando los cromosomas hijos llegan a los polos de la célula (Ordoñez et al., 2016). Al iniciar esta etapa se nota la futura región nuclear y aparece la membrana nuclear, los cromosomas pierden su estado de condensación y se alargan, comenzado la formación del nucléolo (Orilló y Bonierbale, 2009). Los cromosomas alcanzan los polos del huso, la envoltura nuclear se forma nuevamente y los cromosomas condensados se relajan (Pierce, 2010).

Citocinesis

Es la segmentación y separación del citoplasma, se termina de formar la placa celular, la nueva pared celular entre las células recién formadas (Orillo y Bonierbale, 2009). El citoplasma se divide y se forma la pared celular (Pierce, 2010).

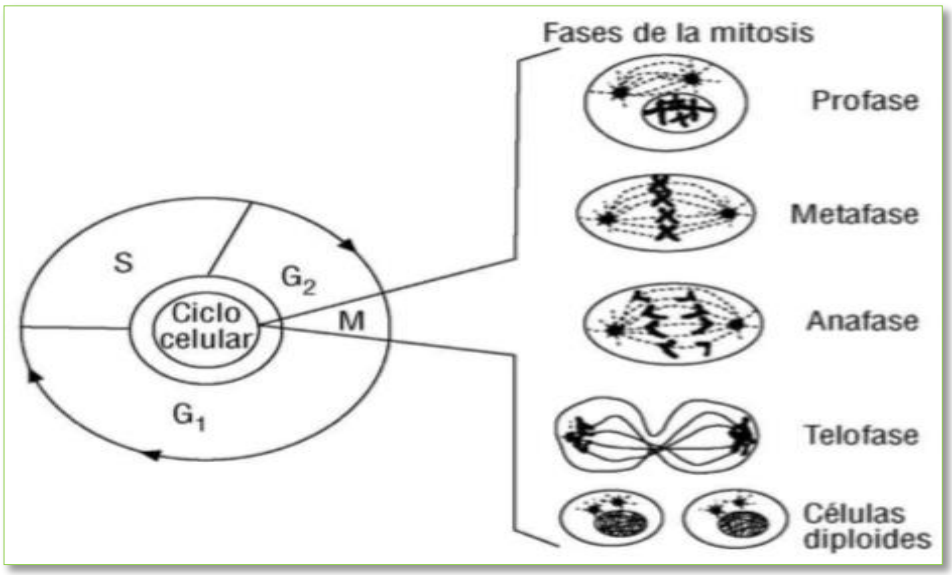


Figura 8. Fases de la mitosis (Ordoñez et al., 2016).

2.17. APLICACIONES DEL ESTUDIO DEL CICLO CELULAR

El estudio del ciclo celular nos permite (Talledo y Escobar, 1995).

- ✓ Eliminar el factor del azar y utilizar criterios objetivos para la toma de muestras.
- ✓ Esclarecer las causas que determinan el importante rol de la poliploidía en el proceso de la diversificación de las especies propias de zonas montañosas.
- ✓ Determinar las causas de la divergencia de reportes en cuanto a números de cromosomas en algunas especies.
- ✓ Esclarecer la variación somaclonal observada en algunos cultivos reproducidos in-vitro.

2.18. ETAPAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE MITÓTICO

Para desarrollar análisis cariotípicos a nivel de contajes y evidenciación de la morfología cromosómica, es indispensable ubicar el preciso momento en el cual los cromosomas presentan su mayor grado de condensación, (Talledo y Escobar, 1995). además, menciona que este periodo suele durar algunos minutos y depende de factores ambientales y genéticos.

Se realizan ensayos a diferentes horas del día (6:00 a.m., 8:00 a.m., 10:00 a.m., 12:00 m.d., 2:00 p.m., 3:00 p.m.) y conteo de células en actividad mitótica en un campo microscópico de 100X, para así determinar la mejor hora de corte de los ápices radiculares (Marcela, Uribe y

Marulanda, 2010). Como el medio ambiente tiene influencia sobre la duración del ciclo celular, es posible que para cada localidad se tenga una recolección distinta (Valladolid,2004).

- **Obtención de material**

Los tejidos meristemáticos localizado en la zona apical de la raíz son los más utilizados en citología para el recuento y análisis de cromosomas mitóticos (Valladolid et al., 2004). Además, menciona que las raíces se pueden obtenerse por germinación de las semillas sexuales en sustratos apropiados (musgo, perlite, grava, agua corriente).La colección de las raíces se hace generalmente temprano, en la mañana alrededor de las 11:00 am. (Orillo y Bonierbale, 2009).Se establece que la mejor hora de colección de ápices radiculares para la observación de cromosomas se encuentra entre 8:00 a 9:00 de la mañana, es donde se aprecia el mayor número de células metafísicas para *Rubus glaucus* Benth (Marcela et al., 2010). Para Camu camu la mejor hora de colección de raíces, para condiciones de la Molina es entre 10 a 13 horas siendo la óptima las 11 horas (Gutiérrez et al., 2016).

- **Fijación**

Los meristemos radiculares se colocan a diferentes horas del día en solución fresca del fijador Carnoy (Etanol absoluto + Ácido acético glacial en una proporción de 3:1 respectivamente) (Talledo y Escobar, 1995). Para tal fin se fijan las raíces en la solución carnoy a diferentes horas del día, haciendo colecciones de meristemos radiculares de 8h a 17h (Blas, 1997).

- **Hidrólisis**

Se emplean dos tipos de hidrolisis, la acida y una mezcla de acida con enzimática; en el primer caso se utilizó HCl a 1N por 60 °C por 10 minutos (Marcela et al., 2010), en el presente trabajo el tiempo de 10 minutos se modificó a 20 minutos tomando como referencia la afirmación que realizo (Orjeda (como se citó en Blas, 1997)) afirma también que en camote es de 20 minutos. El ácido se calentará previamente, transcurrido el tiempo de hidrolisis se procederá a quitar el ácido y a lavar con agua destilada (Orrillo y Bonierbale, 2009).

- **Tinción**

Orceína – acética, se procede a colocar las raíces en pequeños contenedores o petris conteniendo el colorante (Orrillo y Bonierbale, 2009). Se le mantiene las raíces en el colorante por 24 horas (Blas, 1997).

- **Aplastado o Squash**

Se colocan las raíces en un porta-objeto, usamos solamente 1-2 mm de la punta, con una gota del mismo colorante (también podemos usar ácido acético al 45%), se coloca un cubre - objeto y asegurando uno de los extremos (Orrillo y Bonierbale, 2009). Luego de colocar el cubre objeto se golpea firme y fuertemente la muestra con una barrilla de goma, este golpe va causar la separación de las células (Talledo y Escobar, 1995). Ademan menciona, que, para un buen squash, la presión sea perpendicular a la lámina.

- **Conteo de células**

Las muestras procesadas de cada hora son observadas al microscopio con el propósito de determinar el índice de fase, mediante el contaje de las diferentes fases del ciclo celular (interface, profase, metafase, anafase y telofase) en aproximadamente 1000 células (Talledo y Escobar, 1995).

- **Procesamiento de datos**

Finalmente, la sumatoria de células en división (profase, metafase, anafase y telofase), respecto al total de células expresada en porcentaje constituye el índice mitótico (Talledo y Escobar, 1995).

Determinación del índice de cada fase:

$$IF = \frac{N° \ células \ fase}{N° \ células \ total} \ x100$$

Determinación del índice mitótico:

$$IM \ (\%) = IFp + IFm + IFa + IFt$$

DONDE: IF = Índice de fases, IM= Índice mitótico, IFp= profase, IFm= Metafase, IFa=Anafase, IFt= Telofase

2.19. ETAPAS EN EL CONTAJE DE CROMOSOMAS

El material a utilizar para la determinación del índice mitótico y para el contaje de cromosomas son los meristemos radiculares.

- **Obtención de material**

Para efectuar el conteo de cromosomas mitóticos se deben utilizar tejidos meristemáticos que se caracterizan por encontrarse en constante mitosis, poseer núcleos grandes y permanecer indiferenciados (Roth (como se citó en Valladolid et al., 2004)). El material

biológico comprende meristemos radiculares de semillas, granos o tubérculos, obtenidos a partir del extremo distal de raíces primarias o secundarias de color blanco o crema, de aspecto brillante y consistencia frágil con una longitud aproximada de 1 – 1.5 cm (Talledo y Escobar, 1995).

- **Prefijación o Pretratamiento**

Es el tratamiento que se realiza a las puntas de raíz con sustancias denominadas inhibidores de mitosis (Colchicina, 8-hidroxiquinolina, 1-bromonaftaleno, bajas temperaturas positivas, etc.) para acumular el mayor número de células metafásicos en el meristemo (Valladolid et al., 2004). Los inhibidores de mitosis actúan sobre el proceso de formación del uso acromático impidiendo el pase hacia el anafase y causando el acortamiento y dispersión de los cromosomas (Talledo et al., 1993).

- **Fijación**

Para preservar una sección del tejido se requiere de un fluido que no distorsione ni disuelva la estructura celular, elimine bacterias y hongos, mantenga inactivas a las enzimas autocatalíticas, además de modificar el tejido en forma tal que llegue hacer capaz de resistir los tratamientos subsiguientes (Valladolid et al., 2004). La solución de pretratamiento es eliminada con una pipeta Pasteur y se añade el fijador Carnoy (3 partes etanol absoluto: 1 parte ácido acético glacial), previo lavado de las raíces con agua destilada y las muestras se dejan en el fijador Carnoy a 4 °C por 24 horas (Blas, 1997).

- **Hidrólisis**

Entre los primeros el más importante es el ácido clorhídrico 1 normal(N) que provoca la disolución de las sales pécticas de la lámina media facilitando la separación de las células y el aclaramiento del citoplasma (Valladolid et al., 2004). A tiempos de exposición menores, el tejido meristemático permanece duro y las células no se dispersan; mientras que a la misma temperatura y a mayor tiempo de cocción (16-22 minutos) las células se dispersan rápido y se rompen, además los cromosomas no se evidencian claramente (Blas, 1997), afirma también que en camote es de 20 minutos (Orjeda (como se citó en Blas, 1997))Las raíces lavadas con agua destilada se hidrolizan en una solución de ácido clorhídrico 1 N durante 10 a 12 minutos a 60 °C (Blas, 1997).

- **Tinción**

Previo enjuague con agua destilada, se añade aproximadamente 1ml de aceto-orceína al 2% durante 24 horas, tiñe adecuadamente para recuento cromosómico; también se reporta el uso de este colorante para otros cultivos como papa, camote, olluco y oca; a la misma concentración y tiempo de exposición (Blas, 1997)

- **Aplastado o Squash**

Las puntas de raíces de aproximadamente 2 a 3 mm son cortadas y puestas sobre una porta objeto, al cual se le añade 1 gota de ácido acético al 45% a fin de aclarar el citoplasma (Blas, 1997). Se coloca el cubre objeto y asegurando uno de los extremos, procedemos con una barrilla de goma, o un borrador de un lápiz o la punta de el a presionar suavemente, dando golpecitos repetidos, pero firmes, permitiendo la disociación del tejido, posteriormente colocar el porta-objeto entre papel de filtros y presionar fuerte con el dedo pulgar "squash", pero tratando de evitar cualquier movimiento de la porta objeto (Orrillo y Bonierbale, 2009).

- **Observación**

Las muestras se colocan bajo el microscopio óptico inicialmente al 10X, 20X con el objetivo de seleccionar las mejores metafases y luego pasar a objetivos de 40X y 100X para el conteo de cromosomas, las células beben estar intactas, no superpuestas ni con artefactos que puedan distorsionar el conteo exacto de cromosomas (Orrillo y Bonierbale, 2009). Los cromosomas alcanzan su mayor grado de acortamiento y condensación, encontrándose perfectamente individualizados, por lo que son visibles con el microscopio óptico (Ordoñez et al., 2016).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el periodo de Enero a Junio del presente, en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo".

Departamento	:	Ancash
Provincia	:	Huaraz
Distrito	:	Independencia
Altitud	:	3100 m.s.n.m.

3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

3.2.1. Material vegetal

Son semillas de los 4 ecotipos de tarwi (*Lupinos mutabilis* Sweet), proporcionado por el Programa de leguminosas de Grano y Oleaginosas (PLGO) de la UNALM.

3.2.2. Materiales

- Vasos de tecnopor N°10
- Sustrato (aserrín de tornillo)
- Frasquitos (vials)
- Pinza
- Hoja de bisturí
- Placas Petri
- Bandejas
- Vaso de precipitación de 250ml
- Probeta de 10ml
- Pisceta
- Micro pipeta de 1ml
- Pipeta de 20ml
- Cubre y porta objetos
- Caja de tecnopor

- Papel toalla
- Lápiz
- Plumón marcador

3.2.3. Reactivos

- Agua destilada
- Ácido clorhídrico a 1N
- Etanol absoluto
- Ácido acético glacial
- Aceto-orceína a 2%
- Alcohol de 96°
- Ácido acético al 45%
- Aceite de inmersión

3.2.4. Equipos de laboratorio

- Refrigeradora
- Estufa
- Microscopio Zeiss y Leica DM 750
- Cámara fotográfica

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Tipo de investigación

La siguiente investigacion fue de tipo no experimental

3.3.2. Diseño experimental

No se utilizó ningún diseño, por ser un trabajo de investigacion descriptivo.

3.3.3. Procesamiento de datos

❖ **Índice mitótico**

Se realizaron las colectas de meristemos radiculares, a cada hora del día (08 a las 17 horas), donde se contabiliza las células en cada fase de la división celular. El índice mitótico está constituido, por la sumatoria de las células en división (profase, metafase, anafe, telofase) respecto al total de células contabilizados por cada campo microscópico. Para la determinación del índice mitótico se utilizó la siguiente formula y posteriormente se procedió a llenar el cuadro respectivo para el mejor análisis de datos.

$$\text{IF (\%)} = \frac{\text{N° de células de cada fase}}{\text{N° total de células}} \text{x } 100\%$$

$$\text{IM} = \text{IFp} + \text{IFm} + \text{IFa} + \text{IFt}$$

Dónde: IF: Índice de fase, IM: Índice mitótico, IFp: Profase, IFm: Metafase, IFa: Anafase y IFt: Telofase.

❖ **Determinación del número de cromosomas**

Por la naturaleza del estudio solo se considera la moda es decir el número de cromosomas más frecuentes hallados para cada entreda (Blas, 1997). Se utilizó el método de observación, evaluación directa y se aplicó la moda. Debido al pequeño tamaño y a la gran cantidad de cromosomas que presenta este material, se hizo un conteo estimado del número de cromosomas (Marcela et al., 2010).

3.3.4. Población o universo

La población está representada por plantas de los 4 ecotipos de tarwi (*Lupinos mutabilis* Sweet), que son: Yunguyo, Cholo fuerte, Andenes y el ecotipo local (Olleros).

3.3.5. Muestra

Está representado por raíces colectados en frasquitos (vials) de cada ecotipo de tarwi.

3.4. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. Determinación del índice mitótico

<u>Obtención de material</u>

1. Se sembró 3 semillas en vasos de tecnopor N° 10, que tenía como sustrato el aserrín fino de tornillo.
2. Luego se dejó desarrollar las plantas hasta que alcancen una altura promedio de 21cm a los 23 d.d.s en condiciones de Huaraz y las plantas estaban en perfecto estado de desarrollo.
3. Se removió la planta, del vaso aplicando un ligero golpe en la base, para retirar la planta incluido el sustrato.
4. Luego con la ayuda de una pinza de punta fina se cortaron aproximadamente 10mm de la parte terminal de la raíz, la cual presentaron un color blanco hialino.

Ojo: en caso de observar restos de sustrato en raíces cortadas, recomendable hacer un lavado con agua destilada.

Fijación

5. Se colectaron de 8 a 10 raíces y se fijaron en frascos que contengan la solución de Carnoy por cada hora (8:00 am a 5:00 pm), respectivamente identificadas las muestras (5 muestras por cada hora).

6. Las raíces colectadas en frascos por cada hora, fueron colocados en una refrigeradora por 24 horas a 4°C.

Hidrólisis

7. Previamente se retiró la solución de Carnoy de los frascos y se agregaron a las raíces, ácido clorhídrico (HCl) a 1N previamente calentado por 5 minutos.

8. Se calentó la solución de ácido clorhídrico, contenido las raíces en una estufa a 60 °C, durante 20 minutos.

9. Se eliminó el ácido clorhídrico HCl, lavando cuidadosamente las raíces con agua destilada.

Tinción

10. Para la tinción se añadió aproximadamente 1ml de aceto-orceína al 2% por 24 horas a temperatura del ambiente.

Squash

11. Se cortaron con bisturí 1 a 2 mm de la punta de la raíz y colocar en centro de una lámina porta-objeto.

12. Se agregaron una gota de aceto-orceína y colocar sobre esta, la lámina cubre-objeto.

13. Asegurando uno de los extremos de la lámina, presionar suavemente con el borrador del lápiz, dando golpes repetidos y firmes en forma perpendicular a la lámina.

14. Se Colocaron las hojas dobladas de papel toalla sobre el cubre-objeto y presionar fuertemente con el dedo pulgar, evitando cualquier movimiento lateral de la lámina cubre-objeto.

Observación y conteo de células

15. Se Colocaron la lámina porta-objeto contenido la muestra, bajo el microscopio óptico utilizando inicialmente un aumento de 10X x10X para buscar células contables, luego a un aumento mayor.

16. Se observaron las células por cada campo, con 5 repeticiones por cada hora.
17. Se contabilizaron las células en las distintas fases de la división para su posterior cálculo del índice mitótico.

3.4.2. Técnica para el contaje de cromosomas

Obtención de material

1. Se hizo enraizar las semillas, colocando en vasos de tecnopor que contengan sustrato de aserrín (20 a 25 d.d.s.).

Pre-tratamiento

2. Se colectaron puntas de raíces (10 am a 12pm) de aproximadamente 10mm de longitud.
3. Luego se colocaron en frascos que contengan agua helada (agua destilada) y colocarlo los frascos junto con trocitos de hielo en una caja de tecnopor.
4. Se dejó en la refrigeradora por 24 horas a 4 °C.

Fijación

5. Se eliminaron la solución de pre-tratamiento con la micropipeta.
6. Se añadió el fijador Carnoy (3partes de etanol absoluto; 1 parte de ácido acético glacial).
7. Se Dejaron las muestras en el fijador por 24 horas a 4°C.

Hidrólisis

8. Se eliminaron la solución de fijación, con una micropipeta
9. Las raíces lavadas con agua destilada se hidrolizaron en una solución de ácido clorhídrico 1N durante 20 minutos a 60°C, previamente calentado el ácido.

Tinción

10. Previo enjuague con agua destilada, se añadió aproximadamente 1ml de aceto-orceína al 2%por 24 horas a temperatura del ambiente.

Squash

11. Se cortaron las puntas de raíces de aproximadamente 2 a 3 mm y puesto sobre un porta-objeto.
12. Se agregaron una gota de aceto-orceína al 2% y el ácido acético al 45% a fin de aclarar el citoplasma.

13. Se colocó el cubre-objeto sobre la muestra y se golpeó con el borrador del lápiz en forma perpendicular, sin ningún movimiento a los laterales.

14. Luego se aplasta firmemente, cubriendo con papel filtro, la preparación.

Observación

15. Se colocó al microscopio óptico (Marca Zeiss y Leica DM 750) a un aumento de 10X x 100X y aceite de inmersión.

Conteo de cromosoma

16. Los cromosomas se contaron en 12 células metafásicos por cada ecotipo.

3.5. EVALUACIÓN DE DATOS

- **Índice mitótico**

Se contabilizaron las células en cada fase, por cada campo microscopico, con 5 repeticiones por cada ecotipo.

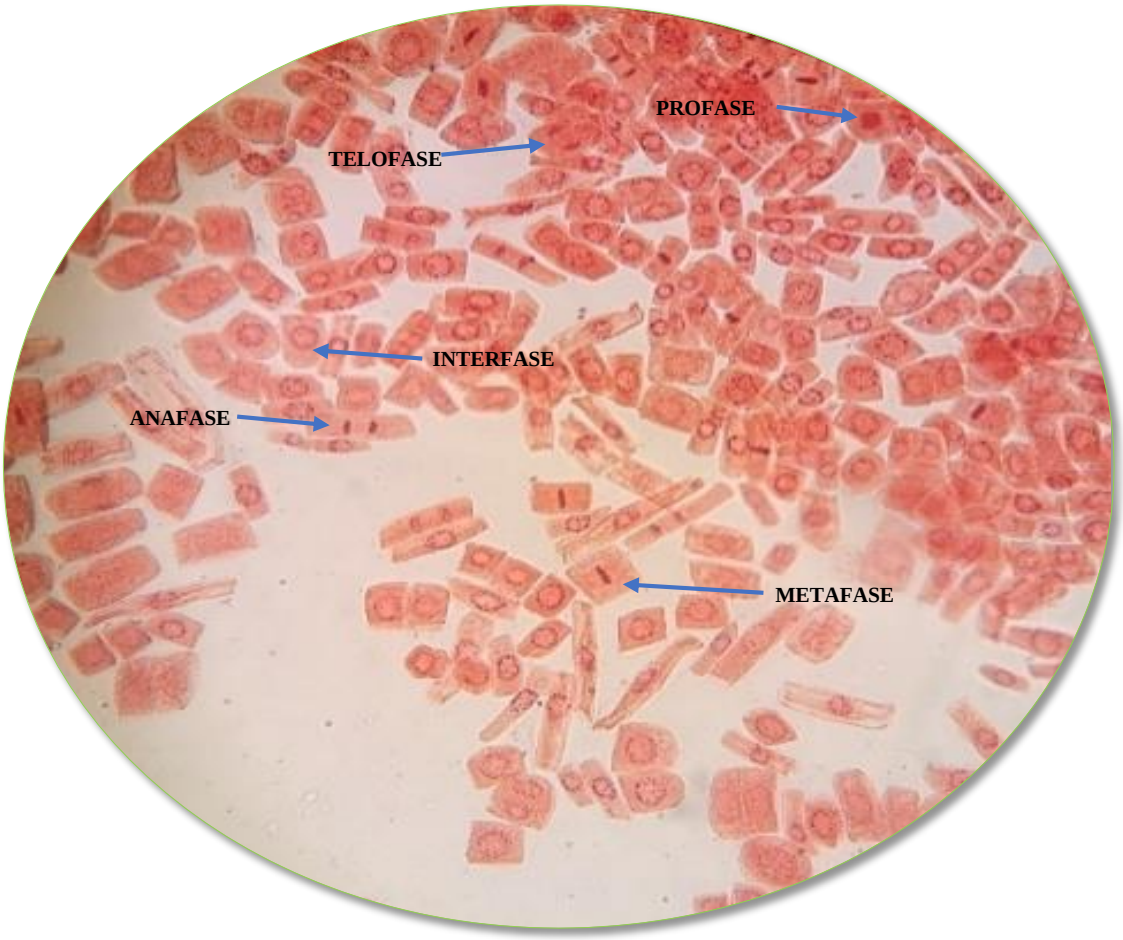


Figura 9. Células de tarwi, en proceso de división celular.

❖ **Conteo de cromosomas**

Se contabilizó los cromosomas, por observación directa en 12 células, por cada ecotipo

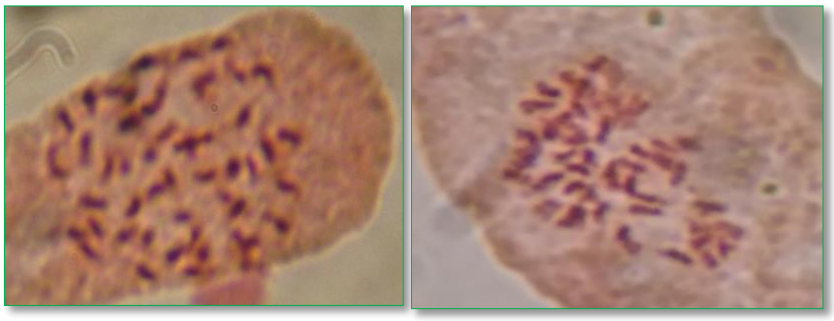


Figura 10. Cromosomas del ecotipo Andenes.

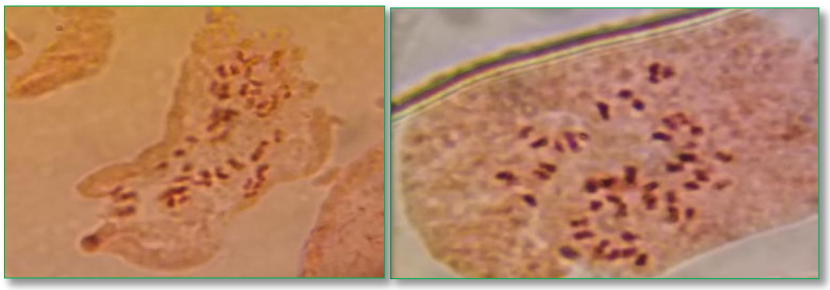


Figura 11. Cromosomas del ecotipo Yunguyo.

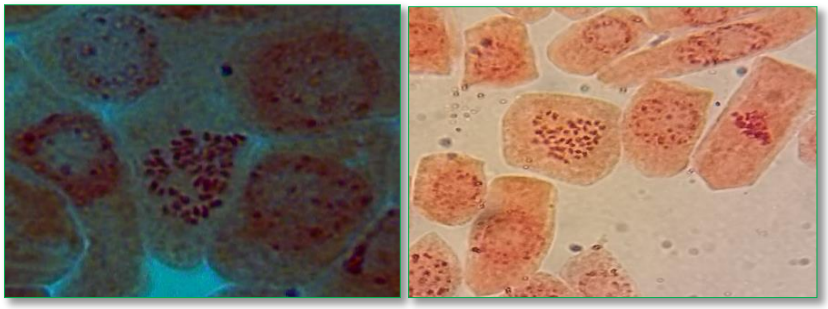


Figura 12. Cromosomas del ecotipo Cholo fuerte.

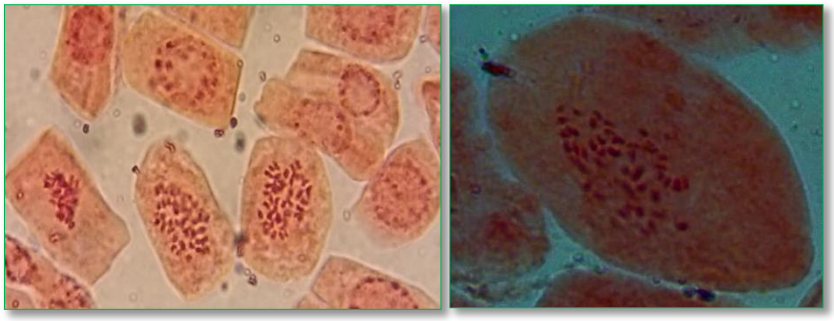


Figura 13. Cromosomas del ecotipo Local (Olleros).

IV. RESULTADOS

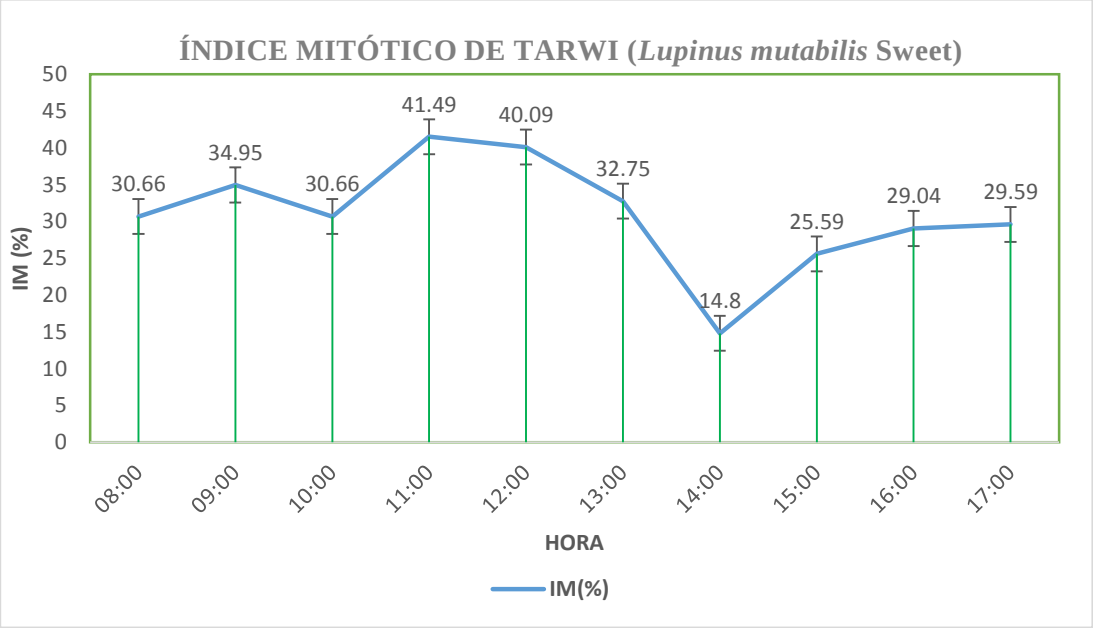
4.1. ÍNDICE MITÓTICO

La observación de las muestras, nos indica que la hora de colección más adecuada de las raíces de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) en las condiciones de Huaraz, debe hacerse entre 10 a 12 horas, siendo las más óptima 11horas de la mañana, con un índice mitótico (IM) de aproximadamente 41.49, como se detalla en el cuadro.

Tabla 4. Porcentaje de cada fase en la división celular

HORA	CELULAS CONTABLES	INTERFASE (%)	PROFASE (%)	METAFASE (%)	ANAFASE (%)	TELOFASE (%)	IM (%)
08:00	1370	16.93	11.02	1.90	0.51	0.29	30.66
09:00	1090	19.54	12.20	2.39	0.28	0.55	34.95
10:00	1546	16.11	11.71	1.68	0.97	0.19	30.66
11:00	1246	22.07	14.85	2.81	1.44	0.32	41.49
12:00	1110	24.95	13.15	1.08	0.72	0.18	40.09
13:00	1087	19.32	10.67	1.75	0.55	0.46	32.75
14:00	1047	10.70	3.06	0.57	0.29	0.19	14.80
15:00	1016	15.45	8.07	1.18	0.69	0.20	25.59
16:00	1071	16.15	10.18	1.68	0.84	0.19	29.04
17:00	1007	15.99	11.02	1.19	0.99	0.40	29.59

Tabla 5. Variación del índice mitótico.



4.2. NÚMERO DE CROMOSOMAS

Haciendo un análisis de 48 células evaluadas (12 por cada ecotipo), utilizando la moda por la naturaleza del estudio se determinó que los 4 ecotipos de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) evaluados, tienen con más frecuentes 2n = 48 cromosomas, encontrándose una constancia de 83.3 % en el ecotipo Andenes y Yunguyo a sí mismo se tiene una constancia de 75% y 66.7% para los ecotipos cholo fuerte y ecotipo local olleros, respectivamente.

Tabla 6. Número de cromosomas encontrados en 12 células por cada ecotipo

Ecotipos	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Andenes	48	46	44	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Yunguyo	44	48	48	45	48	48	48	48	48	48	48	48
Cholo fuerte	48	48	45	48	47	48	48	48	48	48	44	48
Ecotipo local	48	48	47	48	45	48	44	48	48	46	48	48

V. DISCUSIONES

5.1. ÍNDICE MITÓTICO

En base a la evaluación cíclica para un periodo de 17 horas de los índices de fase (IF) e índice mitótico (IM) se estableció que la colecta más adecuada de raíces de tarwi en condiciones ambientales del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" – Huaraz debe realizarse entre 10 a 12 horas ya que se observa mayor índice mitotico (41.49%) de igual manera en esta hora tenemos más probabilidades de encontrar una mayor frecuencia de células metafásicas. Durante las demás horas los IM fueron bajos fluctuando entre 14.8 a 41.49 %, la división celular en vegetales generalmente se da en horas de la mañana, alrededor de la 11 am como lo indica (Orillo y Bonierbale, 2009). (Talledo et al., 1993), indica que en caso de Lima efectuar la colecta entre 10 a 11 horas de la mañana, a si mismo (Gutiérrez, 2016) indica que encontró entre 10 a 13 horas un IM igual 39% para el cultivo de Camu camu, concordando con todo lo mencionado en la revisión bibliográfica.

5.2. NÚMERO DE CROMOSOMAS

Presentando como número más frecuente de cromosomas 2n=48, llegando a encontrar igual que, (Camarena et al., 2012), señala que alrededor de 50 especies norteamericanas analizadas tienen 2n=48 cromosomas, ocasionalmente 2n=96 generalmente poliploides. (Gladstones (como se citó en Camarena et al., 2012)) indica que en 22 accesiones de 16 especies de Lupinus provenientes de Bolivia, Ecuador y Perú, tuvieron 2n=48 cromosomas a excepción de *L. berlandieri* con 2n=36 cromosomas. Encontró en los Lupinus de américa del norte es 2n=48, mientras que los números menos comunes citados son 2n=24, 36, 40 y 96, las únicas especies de américa del sur estudiadas citológicamente son *L. mutabilis* dulce con 2n=36 y L. russellianus C. P Smith con 2n=36 (Perisse et al., 2000). Con respecto al número básico (X) no se tiene con certeza el número exacto, como lo indica, que el género *Lupinus* es de 8 (2n=48) y 10 (2n=48) (Castañeda y Jiménez (como se citó en Camarena et al., 2012)). A si mismo se sugirió que es X=6 y su evolución estaba acompañado por aneuploidía (Dunn y Gladstones (como se citó en Camarena et al., 2012)).

VI. CONCLUSIONES

- Se estableció que la hora adecuada para la colección de raíces de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), para condiciones medio ambientales de Huaraz es de 10 a 12 horas de la mañana, es donde se observa el mayor número de índice mitótico, por lo cual tenemos más probabilidades de visualizar y contabilizar los cromosomas porque es un estadio metafásico donde los cromosomas alcanzan, su mayor grado de condensación.

- Se logró determinar el número de cromosomas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), presentándose con más frecuencia de 2n= 48 cromosomas, evaluados en doce células metafásicos por cada ecotipo, no encontrando ninguna variación a nivel de cromosomas, entre estos cuatro ecotipos (Andenes, Yunguyo, Cholo fuerte y ecotipo local)

VII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar estudios citogenéticos más detallados, como el cariotipo para saber con certeza el número básico del Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet), debido que esto serviría como base para posteriores trabajos de mejoramiento genético.
- Se recomienda realizar trabajos posteriores de conteo de cromosomas, en otros ecotipos o variedades, debido a que, en el Perú se encuentra una gran variabilidad de tarwi.
- Promover política para su conservación (*in-situ* y *ex-situ*), revalorar y promocionar su consumo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcántar, J. (2014). Los poliploides y su importancia evolutiva. *Temas de ciencia y tecnología.* 18(54), 17-29.
2. Bolívar, F. (2011). *Por un uso responsable de los organismos genéticamente modificados*. México, México: AMC (Academia Mexicana de Ciencia).
3. Burbano, L., Fernández, E. y Cortes, E. (2011). Determinación de la hora mitótica de Guadua angustifolia var. Grandicaula (Familia: Gramineae) a partir de meristemos radiculares. *Invest. Univ. Quindio,* (22), 129-135.
4. Blas, R. (1997). *Determinación del número cromosómico de arracacha (Arracacia xanthorrhiza Bancroft)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional La Molina. Lima, Perú.
5. Camarena, F., Huaringa, A., Jimenez, J. y Mostacero, E. (2012). *Revalorización de un cultivo subutilizado: Chocho o tarwi (Lupinus mutabilis* Sweet*).* Lima, Perú: Ediciones AGRUM.
6. Camarena, F., Chura, J. y Blas, R. (2009). *Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas*. Lima, Perú: CONCYTEC.
7. Camillo, F., Possobon, T. y Schifino-Wittmann. (2006). Chromosome numbers in south american andean species of *Lupinus* (Leguminosae). *Bonplandia* 15: 113.
8. Cubero, J. (2003). *Introducción a la mejora genética vegetal.* Córdoba, España: Mundi-prensa
9. Chirinos, M., Jimenez, J. y Vilca, L. (2015). Análisis de variabilidad genética entre treinta accesiones de tarwi (*Lupinus mutabilisis* Sweet) usando marcadores moleculares ISSR. *Scientia agropecuaria.* 6(1); 17-30.
10. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (2010). *El segundo informe sobre el estado de los recursos fitogeneticos para la alimentación y la agricultura en el mundo*. Roma, Italia: Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura.
11. Garay, O. (2015). *El tarwi alternativa para la lucha contra la desnutrición infantil*. Huancayo, Perú: INIA.

12. Gutiérrez, R. Parra, R. y Tord, P. (2016). *Determinación del número cromosómico de Camú camu* (*Myrciaria dubia* H. B. K.): estudio comparativo de cuatro poblaciones naturales. Lima, Perú: Centro de investigación de recursos genéticos y biotecnología vegetal (CIRGEBV).
13. Klug, W., Cummings, M., Spencer, C. y Palladino, M. (2013). *Conceptos de genética*. Madrid, España: Pearson.
14. Lezama, P. (2010). *Las especies de Lupinus L. (Fabaceae) y de sus simbiontes en el distrito de Corongo-Ancash* (Tesis de posgrado). Universidad Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
15. Marcela, L., Uribe, M. y Marulanda, M. (2010). Estandarización de la técnica citogenética "squash" para el conteo de cromosomas mitóticos en R*ubus glaucus* Benth. *Scientia Et Technica*, 17(46), 74-79.
16. Orrillo, M. y Bonierbale, M. (2009). *Biología reproductiva y citogenética de la papa*. Lima, Perú: C.I.P.
17. Ordoñez, B., Orrillo y Bonierbale, M. (2016). *Manual: Biología reproductiva y citológica de papa*. Lima, Perú: CIP.
18. Pierce, B. (2010). *Genética un enfoque conceptual*. Madrid, España: Panamericana.
19. Perisse, P., Torres, L. y Planchuelo, M. (2000). Chromosome studies in some members of *Lupinus* (Fabaceae: Lupininae) of south America. The japan Mendel society. 65: 149-152, Cordoba, Argentina.
20. SERNANP (Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el estado). 2015. *Parque Nacional Huascaran: plan maestro 2010-2015*. Lima, Perú: SERNANP.
21. Stansfield, W. (1998). *Genética*. Bogotá, Colombia: McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE MEXICO, S.A.
22. TARWI CORP. (2018). La esencia andina. *Tarwi, la mejor fuente de proteína vegetal*. *Volumen. (01),* P. 2.
23. Tapia, M. (2015). *El tarwi, Lupino andino: Tarwi, Tauri o Chocho* (*Lupinus mutabilis Sweet*). Áncash, Perú: Fondo Ítalo Peruano.
24. Talledo, D., Escobar, C. y Alleman, V. (1993). *Introducción al análisis cromosómico en vegetales*. Lima, Perú: Universidad Ricardo Palma.

25. Talledo, D. y Escobar, C. (1995). *El ciclo celular en vegetales: Su estudio, importancia y aplicaciones*. Lima, Perú: Universidad Ricardo Palma.
26. Thiman, W. y Palladino, M. (2010). *Introducción a la biotecnología*. Madrid, España: Pearson.
27. Valladolid, A., Blas, R., y Gonzales, R. (2004). *Introducción al reencuentro de cromosomas somáticos en raíces andinas*. Lima, Perú: C.I.P.

IX. ANEXO

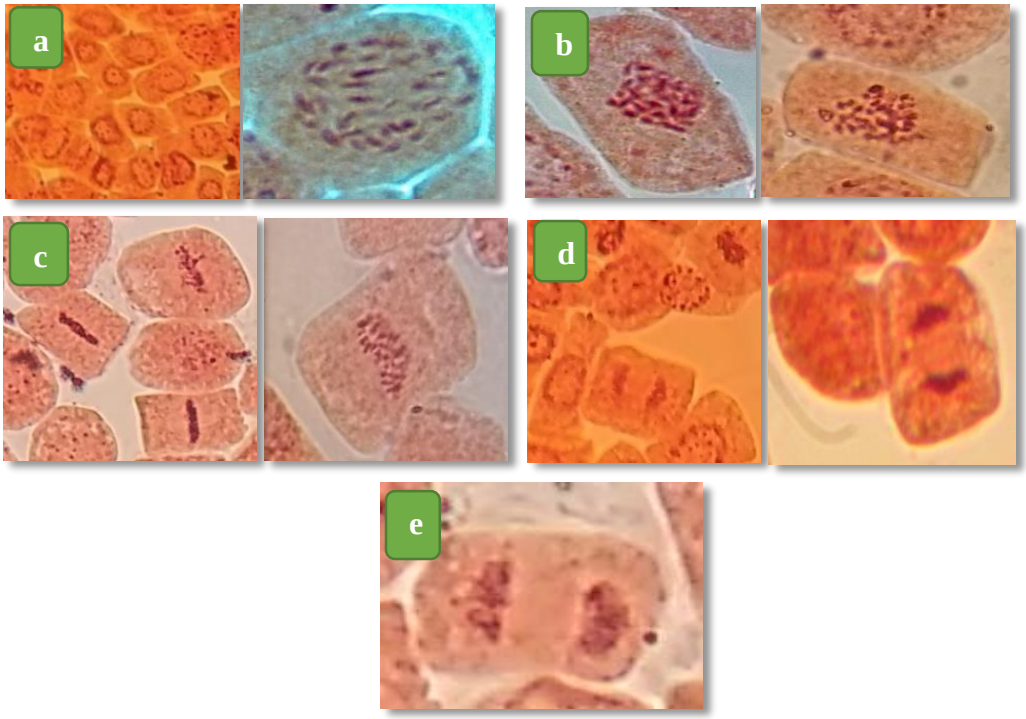


Figura 14. Fases de la división celular observados a 40x, **a.** Interfase, **b.** Profase, **c.** Metafase, **d.** Anafase y **e.** Telofase.

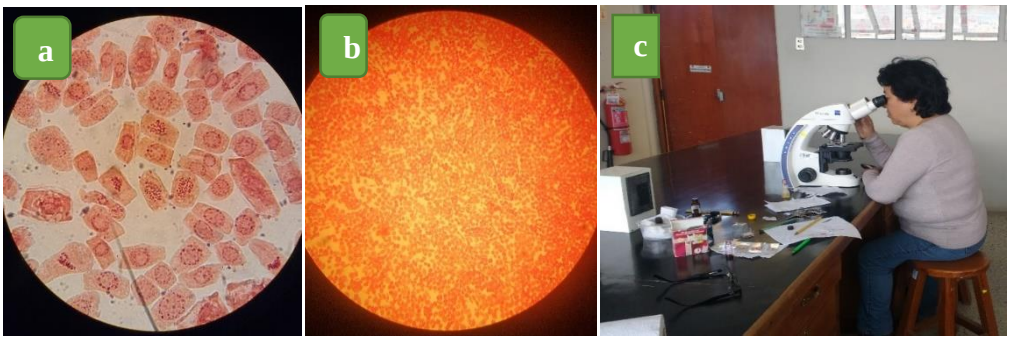


Figura 15. **a. y b**. Campos microscopicos a 40x y 10x, respectivamente, **c.** Supervisión de la asesora de tesis.

Figura 16. **a., b., c. y d.,** Supervisión de la tesis, por parte de los jurados.

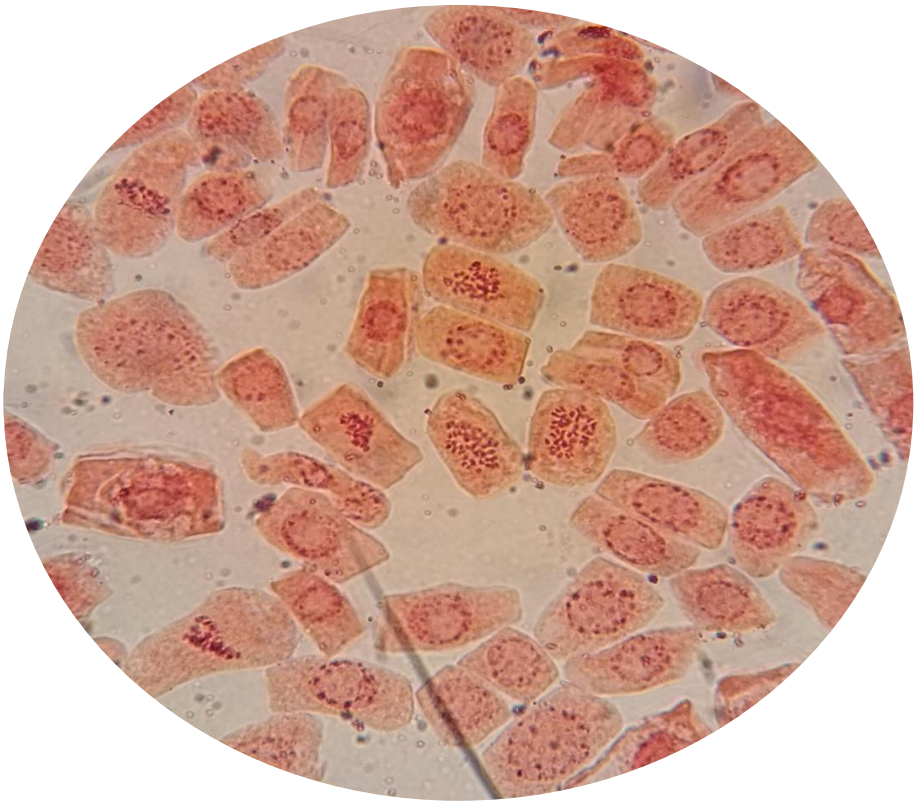


Figura 17. Campo microscopico a 100X, para el conteo de cromosomas.

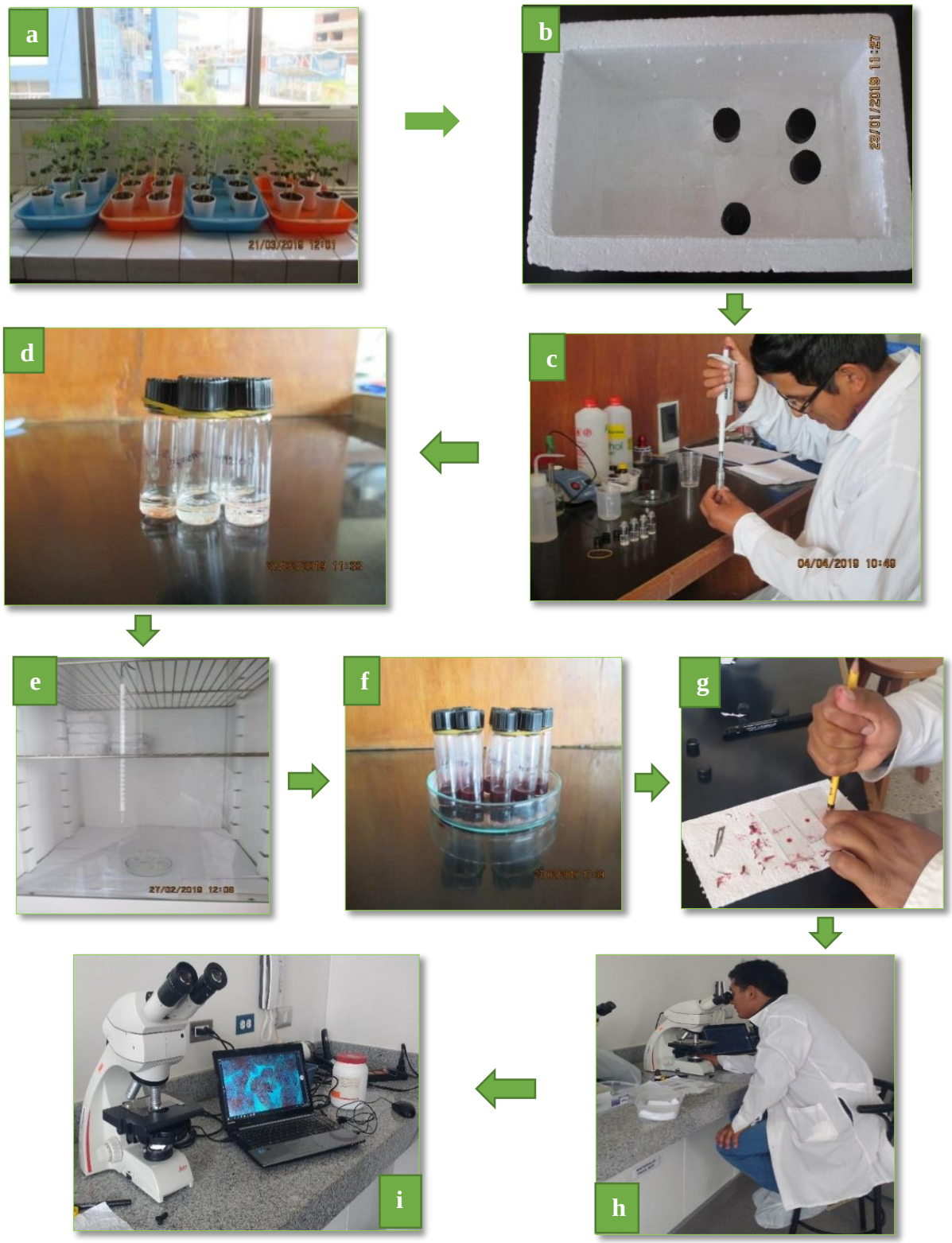


Figura 18. Procedimiento para la obtención de muestras para el contaje de cromosomas, **a.** Obtención de raíces, **b.** Pre-tratamiento, **c. y d.** Fijación, **e.** Hidrólisis, **f.** Tinción, **g.** Squash, **h.** Observación y **i.** Conteo de cromosomas.