

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Determinación de ploidía por contaje de cromosomas
y cloroplastos en cultivares de papa nativa
(*Solanum spp*). INIA Ayacucho 2019.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA**

Presentado por el:
Bach. OCHATOMA PIZARRO, Abel

AYACUCHO – PERÚ
2019

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

A los docentes de la Escuela Profesional de Biología y en particular a los docentes de la Especialidad de Biotecnología.

Al Ing. Máximo Morote Quispe por facilitarme las muestras y brindarme su apoyo

A mi asesor Blgo. Fidel Rodolfo Mujica Lengua y co-asesor Blgo. Reynán Condor Alarcón, excelentes maestros.

A todas las personas que hicieron posible realizar la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Características generales	3
2.3. Ubicación taxonómica	4
2.4. Importancia de la papa	5
2.5. Origen y distribución	5
2.6. Diversidad y variabilidad genética	6
2.7. Variedades de papas nativas del Perú	8
2.8. Variación en el número cromosómico de la papa	8
2.9. Efectos de la poliploidía en el fenotipo de la papa	9
2.10. Origen de los poliploides en papa	10
2.11. Importancia de la ploidía en las plantas cultivadas	10
2.12. Estudios de cromosomas en vegetales	11
2.13. Contaje cromosómico	11
2.14. Estomas	12
2.15. Clasificación de los tipos de estomas	13
2.16. Relación de la ploidía y características de los estomas	13
2.17. Densidad estomática de <i>Solanum tuberosum</i>	14
2.18. Relación de la ploidía y cloroplastos	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Tubérculos de cultivares de papa nativa	17
3.2. Contaje de cromosomas en meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa	17
3.3. Contaje de cloroplastos en el mesófilo del envés de las hojas de cultivares de papa nativa	18

IV.	RESULTADOS	19
V.	DISCUSIÓN	27
VI.	CONCLUSIONES	31
VII.	RECOMENDACIONES	33
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
	ANEXOS	37

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Niveles de ploidía, número de cultivares y porcentaje de ploidía tras el conteo del número de cromosomas y cloroplastos de 150 cultivares de papa nativa.	24
Tabla 2. Niveles de ploidía y promedio del número de cloroplastos del mesófilo de folíolos de 150 cultivares de papa nativa.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Observación de células en metafase de raíces de papa, ploidías 2x (diploide) y 4x (tetraploide)	12
Figura 2 A) Partes de un estoma B) genotipo tetraploide (flecha, 12 cloroplastos en célula guardia), C) genotipo diploide (flecha, 7 cloroplastos en célula guardia). Aumento 400X. Barra 10 μ m.	14
Figura 3. Promedio del número de cloroplastos y su posible ploidía	15
Figura 4. Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía correspondiente	21
Figura 5. Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía correspondiente	22
Figura 6 Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía (tetraploide).	23

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Preparación del reactivo 8-hidroxiquinoleína 0.002 M.	39
Anexo 2. Preparación de la solución KI – I (Lugol).	40
Anexo 3. Preparación de la solución Lacto-propiónico orceína.	40
Anexo 4. Proceso de metodología para el contaje de cromosomas metafásicos en el meristemo apical de la raíz de tubérculos de cultivares de papa nativa.	41
Anexo 5. Proceso de metodología para el conteo de cloroplastos en los estomas de los folíolos de cultivares de papa nativa.	42
Anexo 6. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: ACC 52 , genotipo diploide.	43
Anexo 7. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: ACC 52 , genotipo diploide.	44
Anexo 8. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: ACC 106 , genotipo triploide.	45
Anexo 9. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: ACC 106 , genotipo triploide.	46
Anexo 10. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: ACC 74 , genotipo tetraploide.	47
Anexo 11. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: ACC 74 , genotipo tetraploide.	48
Anexo 12. Fotografía de la colección de cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria “cannan”, INIA Ayacucho.	49
Anexo 13. Fotografía de plantas de la colección de cultivares de papa nativa, cultivadas en el invernadero de la Estación Experimental Agraria “cannan”, INIA Ayacucho.	50
Anexo 14. Número de cromosomas y cloroplastos diploides de cultivares de papa nativa.	51

Anexo 15.	Número de cromosomas y cloroplastos triploides de cultivares de papa nativa.	55
Anexo 16.	Número de cromosomas y cloroplastos tetraploides de cultivares de papa nativa.	56
Anexo 17.	Imágenes de tubérculos de los cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria Canaán INIA Ayacucho	57
Anexo 18.	Matriz de Consistencia	69

RESUMEN

Solanum spp es una planta que se cultiva en la mayor parte de las regiones del mundo, es el cuarto cultivo alimenticio más importante después del maíz, arroz y trigo. Lograr estimar el nivel de ploidía de los cultivares de papa nativa de la región Ayacucho permitirá a los investigadores facilitar información de los cultivares nativos para mejoramiento. Por ello se planteó determinar la ploidía de los cultivares de papa nativa (*Solanum spp*) de la Estación Experimental Agraria Canaán INIA Ayacucho 2018. El trabajo de investigación tuvo como variables importantes al número de cromosomas de las células radicales y al número de cloroplastos foliares en la célula guardia de los estomas. Se tuvo como objetivo general determinar la ploidía por conteo de cromosomas metafásicos del meristemático apical de la raíz de papa y también por conteo de cloroplastos de células guardia de los estomas del envés de los folíolos terminales desarrollados. Como objetivos específicos se planteó determinar el número de cromosomas en cultivares de papa nativa y determinar el número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se utilizaron tubérculos de cultivares de papa nativa los cuales se sembraron en macetas dentro del invernadero de la Estación Experimental Agraria Canaán INIA Ayacucho, el pretratamiento se realizó colectando raíces e introduciéndolos en tubos Eppendorf con 0.3 ml del reactivo 8-hidroxiquinoleína al 0.002M por espacio de 5 h a 4 °C, la hidrólisis se realizó añadiendo HCl 1N precalentado a 60 °C y se incubó 8 min a la misma temperatura, las raíces se sumergieron en orceína-lactopropiónica al 2% por 15 min, finalmente las raíces se colocaron en una lámina porta objetos y se cortó 1-2 mm de la punta de las raíces, se añadió colorante, se cubrió con laminilla y se ejerció presión, se observó bajo microscopio a 100X, se fotografió y reportó los cromosomas metafásicos presentes en 6 células. Para el conteo de cloroplastos se colectó el tejido epidérmico del envés de las hojas y se colocó sobre una lámina portaobjetos con dos gotas de solución de lugol, se cubrió con una laminilla y se observó bajo microscopio óptico con un aumento de 40X y se contabilizó el número de cloroplastos de una de las células guarda de los estomas del tejido epidérmico de los folíolos del envés de la hoja. Se encontró correspondencia entre el número de cromosomas y el número de cloroplastos, lo cual permitió verificar tres niveles de ploidía (diploide, triploide y tetraploide) en los materiales estudiados y por consiguiente se concluyó que de 150 cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria Cannán INIA Ayacucho 2018; 133 son diploides ($2n = 2x = 24$), 15 son triploides ($2n = 3x = 36$) y 2 son tetraploides ($2n = 4x = 24$). Sin embargo resulta necesario realizar más estudios minuciosos a fin de obtener mayor evidencia y certidumbre sobre su posible clasificación taxonómica.

Palabras clave: cultivares de papa nativa, cromosomas, cloroplastos, ploidía

I. INTRODUCCIÓN

El género *Solanum* alberga más de 2 000 especies, la mayoría de las cuales son especies que no tuberizan como el pepino (*S. muricatum*), la berenjena (*S. melongena*), el naranjillo (*S. quitoense*), etc. Una parte reducida del género *Solanum* se encuentra conformado por especies que forman tubérculos o que son tuberizantes (sección *Petota*, subsección *Potatoe*) a las que se denomina papa. Existen alrededor de 190 especies de papa silvestre taxonómicamente distintas, las cuales poseen un número base de cromosomas ($x = 12$) y tienen un rango que varía desde diploides ($2n = 2x = 24$) hasta hexaploides ($2n = 6x = 72$). El género *Solanum* se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 4 000 msnm (metros sobre el nivel del mar).

Se ha calculado que hay aproximadamente unas 5000 variedades de papas cultivadas en el mundo, la mayoría de las cuales crecen principalmente en los Andes de Perú, Bolivia, Ecuador, Chile y Colombia. Presentan un inmenso rango de formas, tamaños y colores, que van desde el blanco hasta el rojo y negro. En el Banco de Germoplasma del CIP (Centro Internacional de la Papa) se encuentran resguardados cerca del 80% de los cultivares nativos y 50% de los parientes silvestres; sin embargo, el estatus de muchos otros todavía está en duda y se desconoce.

El nivel de ploidía constituye uno de los caracteres más importantes para reconocer las especies de papa cultivada, por lo tanto existe la necesidad de realizar este tipo de estudios en los recursos genéticos que poseen los bancos de germoplasma. Estimar el nivel de ploidía en papa nativa permitirá a los investigadores facilitar sus potencialidades para mejoramiento genético. Además permitirá estimar el potencial de los cultivares para propósitos de mejoramiento genético permitiendo desarrollar las estrategias a seguir en la transferencia de resistencia a enfermedades, plagas etc. a través de manipulación de ploidía.

La papa es fuente de alimento importante para el poblador peruano, sin embargo existe información limitada sobre las papas nativas cultivadas en la región Ayacucho, sobre todo en la zona altoandina, por ello se plantea conocer la ploidía de los cultivares nativos de papa con el fin de aportar conocimientos para futuras investigaciones y que esto se plasme en su mejoramiento y así contribuir en la seguridad alimentaria a futuro.

Objetivo General

Determinar la ploidía por conteo de cromosomas y cloroplastos en cultivares de papa nativa (*Solanum spp*) INIA Ayacucho 2018.

Objetivo Específico

- a) Determinar el número cromosómico en cultivares de papa nativa.
- b) Determinar el número de cloroplastos en cultivares de papa nativa.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Existen métodos directos e indirectos para estimar el número de cromosomas y consecuentemente del nivel de ploidía de una especie vegetal. La citometría de flujo del ADN es un método rápido y directo de conocer la ploidía de una planta a partir de la cantidad de ADN existente en sus células, sin embargo, se necesita de un equipamiento especial.¹ El conteo de cromosomas en células meristemáticas es el método inequívoco para la determinación del número de cromosomas y nivel de ploidía de una especie.²

El número básico de cromosomas en el género *Solanum* es doce ($x = 12$). En las papas silvestres y cultivadas existen diferentes números de ploidía, pueden ser $2n = 2x = 24$, $2n = 3x = 36$, $2n = 4x = 48$, $2n = 5x = 60$, $2n = 6x = 72$. El más importante y de gran significación en la evolución de las especies de papa es el nivel tetraploide, que cubre un amplio rango de distribución desde la parte meridional de EE.UU. a la región austral y sur de Chile.³

Después de realizar el conteo de cloroplastos en células guarda y el conteo de cromosomas en células somáticas de punta de raíz de 30 accesiones de papa nativa de *S. tuberosum* grupo Andigenum, se identificaron tres accesiones diploides ($2n = 2x = 24$), que a la vez, presentaron 7 a 8 cloroplastos en las células guarda, el resto de accesiones fueron tetraploides ($2n = 4x = 48$) que a su vez, presentaron 12 a 14 cloroplastos en sus células guarda.⁴

2.2. Características generales

La papa pertenece al género *Solanum* dentro de la familia de las solanáceas donde también se encuentran *Lycopersicon esculentum* "tomate", *Capsicum* spp. "ají", *Petunia* spp. "petunia", *Cyphomandra* spp. "tamarillo", *Nicotiana tabacum*. "tabaco" y otras especies con bayas venenosas⁵. Solo una parte reducida del género *Solanum* se encuentra conformado por especies que forman tubérculos o tuberizantes (sección *Petota*, subsección *Potatoe*) a las que se denomina papa.⁶

La papa es un tallo subterráneo que se halla engrosado como una adaptación funcional como órgano de almacenamiento de nutrientes para la planta. Los tubérculos pueden presentar diversas formas; pudiendo ser alargada, redondeada u oblonga, pueden presentar diversos colores y tonalidades como: blanco, amarillo, violeta, café, rojizo entre otros.⁶

Se han calculado que hay aproximadamente unas 5 000 variedades de papa cultivadas en el mundo, la mayoría de las cuales crecen principalmente en los Andes de Perú, Bolivia, Ecuador, Chile y Colombia.⁷ Presentan un inmenso rango de formas, tamaños y colores, que van desde el blanco hasta el rojo y negro. En el Banco de Germoplasma del CIP se encuentran conservados cerca del 80% de los cultivares nativos y 50% de los parientes silvestres; sin embargo, el estatus de muchos otros cultivares todavía está en duda.⁷

Algunas variedades primitivas lograron ser introducidas en épocas precolombinas hacia la zona de Chile, donde a través de miles de generaciones lograron su adaptación a fotoperiodos de días largos, invierno muy frío y verano templado-cálido. La papa fue introducida en Europa en 1570, primeramente a España, de allí se dispersó a Inglaterra y el resto de Europa, luego fue introducida a las colonias inglesas de este tiempo, después de ahí paso a Norte América, África, Centro América y países asiáticos, Japón, India y China a mediados del Siglo XVII.⁷

De todas las especies cultivadas solamente *S. t. tuberosum* (*S. tuberosum* Grupo Chilotanum) se encuentra mundialmente distribuida, debido a su adaptación a días largos, las demás están restringidas a los países andinos, principalmente adaptadas a días cortos, donde se encuentran millares de cultivares nativos.⁸

2.3. Ubicación taxonómica

Según la clasificación tradicional adoptada por el CIP, existen 8 especies de papa cultivada que son: *S. stenotomum* (2x), *S. goniocalix* (2x), *S. phureja* (2x), *S. ajanhuiri* (2x), *S. juzepczukii* (3x), *S. chaucha* (3x), *S. tuberosum* (4x) y *S. curtilobum* (5x).⁸

Sin embargo el último tratamiento taxonómico realizado, se reclasifica a la papa cultivada en tan solo 4 especies: (i) *S. tuberosum*, con dos grupos de cultivares (grupo Andigena con variedades diploides, triploides y tetraploides de los altos Andes y grupo Chilotanum con variedades tetraploides de las tierras bajas chilenas) (ii) *S. ajanhuiri* (diploide), (iii) *S. juzepczukii* (triploide) y (iv) *S. curtilobum* (pentaploide).⁹ Las especies de papas cultivadas y silvestres están clasificadas dentro de la siguiente posición taxonómica.¹⁰

Reino : Vegetal
División : Fanerógamas
Subdivisión : Angiospermas
Clase : Dicotiledóneas
Subclase : Simpétala
Orden : Tubiflorales
Familia : Solanaceae
Género : Solanum
Especie : *Solanum tuberosum*.

2.4. Importancia de la papa

La papa es el cuarto cultivo alimenticio más importante del mundo después del maíz, el arroz y el trigo. En el año 2017 la producción mundial de papa fue de 341 millones de toneladas.¹¹ Entre los principales productores mundiales de papa se encuentra en primer lugar China, con una producción promedio de 68,206,679 toneladas en los últimos 10 años; en segundo lugar Rusia, con 33,475,791 toneladas en promedio; la India ocupa el tercer lugar con una producción media de 28,634,018 toneladas por año; el cuarto lugar es ocupado por los Estados Unidos cuya producción promedio por año fue 20,142,327 toneladas y finalmente ocupando el quinto lugar está Ucrania con una producción media de 18,996,082 toneladas en los últimos 10 años.¹¹

A nivel nacional la papa se cultiva en 19 de los 24 departamentos del Perú, desde el nivel del mar hasta los 4200 msnm, ubicándose principalmente entre los 2,300 y 4,100 msnm. La producción de papa se obtiene mayormente del interior del país, concentrando el 98% de la producción nacional: Puno, Junín, Cusco, Huánuco, La Libertad, Cajamarca, Ayacucho, Apurímac, Huancavelica, Pasco, Ancash, Arequipa, Amazonas, Ica, Tacna, Piura, Moquegua y Lambayeque; mientras que Lima sólo representa el 2%¹¹.

2.5. Origen y distribución

La papa se originó en los Andes Sudamericanos y fue introducida a la dieta europea en el Siglo XVI.¹² Las primeras papas cultivadas fueron seleccionadas entre 7,000 y 10,000 años atrás por pobladores de los Andes Sudamericanos, según los datos obtenidos con radiocarbono de restos fósiles de papas encontradas en el Cañón de Chilca de la sierra peruana.¹² A partir de dicha selección se generaron una gran cantidad de variedades cultivadas. Este proceso, cuando no se dio espontáneamente en la naturaleza, habría sido llevado a cabo deliberada o inconscientemente por el poblador altiplánico.¹³

Al analizar el perfil genético de las papas cultivadas y especies silvestres relacionadas mediante AFLP nucleares, se llegó a la conclusión de que la papa nativa cultivada tiene un origen único o monofilético en una región extensa al norte del lago Titicaca (Altiplano sur peruano), a partir de los miembros peruanos del complejo *S. brevicaule*¹⁴. Ante la clasificación taxonómica fútil del complejo *S. brevicaule*, en dicho estudio se dio prioridad a *S. bukasovi* como progenitor de la papa cultivada por ser la taxa con el nombre válido más antiguo de este grupo.¹⁴ Como se ha mencionado, la domesticación de las primeras papas sucedió en el altiplano entre Perú y Bolivia, alrededor del lago Titicaca, dado que allí se encuentra la mayor variabilidad genética de especies silvestres y variedades andinas cultivadas.¹⁵ Un segundo grupo de especies nativas crece en las tierras costeras al sur de Chile. Estos cultivares chilenos se derivaron secundariamente de los cultivares andinos que experimentaron hibridación natural con especies silvestres de *S. tarijense*, encontradas al sur de Bolivia y norte de Argentina.¹⁵

2.6. Diversidad y variabilidad genética

La variabilidad genética es la variación del material genético dentro de una población determinada y es un componente de la diversidad genética. La variación entre poblaciones de una especie, más la variación dentro de las poblaciones es la diversidad genética total. Mientras las especies pueden ser más o menos diversas, las características genéticas (caracteres) dentro de las poblaciones pueden ser más o menos variables. Para que la selección natural pueda actuar sobre un carácter, este debe ser lo suficientemente variable de tal modo que se elija al más adecuado y permita la supervivencia de la especie. Es así, como la variabilidad genética constituye la base del progreso genético.¹⁶

El mantenimiento de una amplia variabilidad y diversidad genética tiene un elevado impacto sobre el rendimiento y la estabilidad del comportamiento de la papa. Se propuso una teoría donde la habilidad para el rendimiento está asociada con la heterocigocidad. Por lo tanto, el mantenimiento de una amplia variabilidad genética permitirá una heterocigocidad máxima lo que a su vez asegura un máximo rendimiento y estabilidad del comportamiento bajo condiciones donde no hay control de plagas y enfermedades. Además, la amplia variabilidad genética ofrece la oportunidad de incorporar genes que no se encontraban en el germoplasma cultivado o que estaban en frecuencias bajas.¹⁷

Los agricultores de los Andes Sudamericanos mantienen mezclas de diversas variedades en cultivo como una sabia estrategia de defensa contra los

patógenos y/o insectos que no podrán atacar con igual intensidad los diversos genotipos.¹⁸

La serie tuberosa alberga 60 especies de papa silvestre y 8 especies de papa cultivada de diferentes ploidías. En las papas diploide ($2n = 2x = 24$), *S. stenotomum* es una de las especies que muestra una enorme variabilidad genética, cultivada en los Andes altos. La especie *S. goniocalix* trae muy pocas variedades, siendo una de ellas la famosa papa amarilla de excelente calidad culinaria del Centro del Perú. La especie *S. phureja* fue domesticada en la zona de los páramos húmedos y templados del norte, caracterizada por la ausencia de latencia de sus tubérculos y también por su precocidad. En el altiplano fue domesticada la especie *S. ajanhuiri* similar a las anteriores pero resistente a las heladas, se cree que esta especie proviene de la hibridación natural de *S. stenotomum* por *S. megistacrolobum*.¹⁹

Las papas triploides ($2n = 3x = 36$) son papas estériles por su ploidía impar, lo cual dificulta el apareamiento de cromosomas homólogos en la meiosis. La especie más conocida en el Centro y Sur del Perú es *S. chaucha*, la cual es el resultado de una hibridación natural de *S. tuberosum* ($2n = 4x = 48$) por la especie diploide *S. stenotomum* ($2n = 2x = 24$). La variedad de mayor popularidad y comercialización es la papa huayro.¹⁹ En el altiplano se cultiva intensamente desde hace miles de años la especie triploide *S. juzeapzukii*. Los clones o variedades de esta especie son conocidas como “papas amargas” (alto contenido del alcaloide solanina) y se cultivan en promedio sobre los 4 000 msnm de esta variedad se elabora el chuño o moraya.¹⁹ El origen y evolución de *S. juzeapzukii* es muy interesante y misterioso. Evidencias citogenéticas y agrobotánicas indican que se originó en el altiplano por hibridación natural de la especie cultivada diploide *S. stenotomum* ($2n = 2x = 24$) y la especie altoandina silvestre *S. acaule* ($2n = 4x = 48$).¹⁹

Las papas tetraploides ($2n = 4x = 48$) están englobadas en dos subespecies: *S. tuberosum* ssp *andígena* y *S. tuberosum* ssp *tuberosum*. Esta especie tiene una amplia distribución en los Andes desde el Ecuador hasta Bolivia. Sus variedades son de gran rendimiento y amplia adaptación. Las papas tetraploides del grupo Andígena se originaron por ploidización natural a partir de sus antecesores primitivos diploides. Las papas tetraploides son de alto rendimiento y relativa susceptibilidad a plagas y enfermedades.¹⁹

Las papas pentaploides ($2n = 5x = 60$) son recursos genéticos muy escasos y todos pertenecen a la especie del altiplano *S. curtilobum*. Esta especie al igual

que *S. juzecpzukii* forma parte del acervo genético de las papas amargas y se cultivan para la elaboración de chuño o moraya. *S. curtilobum* evolucionó a partir de hibridaciones naturales entre la papa tetraploide *S. tuberosum ssp andígena* y la especie triploide *S. juzecpzukii*. El progenitor del grupo Andígena aportó genes de alto rendimiento mientras que la especie triploide aportó genes de resistencia a heladas.¹⁹

2.7. Variedades de papas nativas del Perú

En el Perú existen alrededor de 3 000 variedades de papas nativas, estas se concentran básicamente en los Andes del Centro y Sur peruano. Según el Catálogo de Variedades de Papas Nativas del Perú, elaborado por el Año Internacional de la Papa, existen alrededor de 50 variedades de papas nativas prometedoras desde el punto de vista comercial. Ya que presentan sabor atractivo, rendimiento aceptable y posibilidades de cosecha en diferentes épocas del año. Estas papas han sido agrupadas de la siguiente manera: comerciales, semicomerciales, con potencial de mercado y amargas.²⁰

Las papas nativas comerciales se distribuyen regularmente en los principales mercados nacionales de diferentes tipos, ya sea como insumo de productos procesados, puré, papa pelada, precocida o enteras, por sus buenas cualidades culinarias.²⁰

Las papas nativas amargas son denominadas así porque sus tubérculos contienen altos niveles de alcaloides que le confiere ese sabor amargo, pero a la vez esto constituye una defensa natural contra el ataque de plagas y una buena capacidad de adaptación a las heladas. Estas papas no se consumen directamente sino más bien son detoxificadas y procesadas para obtener chuño.²⁰

2.8. Variación en el número cromosómico de la papa

Cada especie tiene un número característico de cromosomas. En la naturaleza es muy poco común encontrar variaciones en el número de juegos cromosómicos (ploidía). Dentro de los cambios en el número de cromosomas se consideran las siguientes alteraciones: haploidía, poliploidía (autopoliploidía, aloploidía), aneuploidía y euploidía.²¹ Las mutaciones causadas por la presencia de dos o más genomas en las células somáticas reciben el nombre de euploides y, más generalmente, el de poliploides. Los organismos que contienen tres genomas o juegos completos de cromosomas se denominan triploides.²¹ A los que contienen cuatro, seises y ocho genomas se les denomina, tetraploides,

hexaploides y octoploides, respectivamente. Dentro de los euploides se pueden considerar dos clases distintas a saber, los autopoliploides y los alopoliploides. Los primeros son poliploides producidos por multiplicación completa del número normal de cromosomas de la especie; por ejemplo, un autotetraploide contiene cuatro juegos idénticos de cromosomas. Los alopoliploides son poliploides cuyos juegos o dotaciones repetidas no son idénticos genéticamente, por prevenir cada juego posiblemente, de especies distintas.²¹

2.9. Efectos de la poliploidía en el fenotipo de papa

Los aneuploides son generalmente menos vigorosos que sus progenitores diploides. Los individuos nulisómicos y monosómicos suelen ser viables solamente en las especies con antecesores poliploides en las que la duplicación previa de cromosomas parece suplir los materiales cromosómicos que faltan.²² Sin embargo, los nulisómicos resultan comúnmente letales para diploides; por el contrario algunos poliploides pueden perder dos homólogos de un complemento y aún sobrevivir; mientras que los monosómicos en plantas rara vez son funcionales. En los animales, la pérdida de un cromosoma completo resulta con frecuencia en un desequilibrio genético, el cual se manifiesta por la mortalidad elevada o fertilidad reducida. En algunas especies no se encuentran individuos trisómicos probablemente porque hasta el desequilibrio causado por un solo cromosoma es letal.²³ En las especies que toleran los cromosomas extras, la trisomía ejerce generalmente un profundo efecto en la morfología, especialmente en las especies que parecen ser tipos diploides básicos. En algunas especies poliploides como el trigo por ejemplo, el grado de tolerancia a la repetición de ciertos cromosomas es grande y hasta los tetrasómicos pueden ser casi indistinguibles de las plantas diploides normales.²³

Un efecto común de la poliploidía es aumentar el tamaño de las porciones vegetativas de la planta, que hace que los autopoliploides sean más frondosos y algo más vigorosos que sus progenitores correspondientes diploides. Sin embargo, este efecto no es general y muchos autopoliploides son débiles y poco vigorosos. Algunos investigadores creen que en cada grupo de plantas existe un nivel óptimo de poliploidía. En la mayoría de los grupos este óptimo parece alcanzar niveles bastantes bajos de autopoliploidía, pero en algunos los octoploides o poliploides aún más altos son todavía tipos vigorosos. Los efectos fisiológicos y fenotípicos de la alopoliploidía son, por lo menos, tan difíciles de predecir como los de la autopoliploidía. Sin embargo, en general los

alopoliploides combinan más o menos entremezcladas las características de las especies de que se derivan.²³

2.10. Origen de poliploides en papa

La poliploidía puede surgir a través de una falla en la división reduccional de la meiosis, durante la primera división (probablemente asociado con los procesos que se llevan a cabo en la profase I, como el entrecruzamiento entre cromátidas), así que el esperma u óvulo “no reducido” es diploide en lugar de haploide. La subsiguiente fertilización envuelve permutaciones de uno o los dos gametos diploides y resulta en triploidía o bien tetraploidía, respectivamente. La poliploidía también puede surgir a través de la polispermia o de la hibridación interespecífica (entre especies).²⁴ Es bien conocido que la poliploidía es especialmente frecuente en grupos híbridos, lo anterior se debe a que los híbridos diploides tienen altas tasas de formación de gametos no reducidos.²⁴

En plantas, la poliploidía puede surgir también por la llamada “duplicación somática”. En este caso, las regiones meristemáticas de la planta, en las cuales se lleva a cabo el crecimiento (se encuentran cerca de las puntas de los tallos y de las raíces), pueden entrar en la profase con el número de cromosomas duplicados, pero no llegan a tener una anafase normal, por lo cual las células resultantes son tetraploides. Con el tiempo este grupo de células puede llegar a constituir la porción dominante en el crecimiento de una rama. La rama tetraploide puede producir frutos de mayor tamaño que los producidos en las ramas diploides y por lo tanto ser favorecidos por los animales (incluido el hombre), los cuales contribuyen a su establecimiento y dispersión.²⁵

2.11. Importancia de la poliploidía en las plantas cultivadas

Algunos autores estiman que por lo menos la tercera parte de las angiospermas son poliploides. Entre las especies cultivadas, la proporción es tan grande o mayor. Esto indica que los accidentes citológicos mencionados anteriormente que conducen a la poliploidía son frecuentes y también indica la importancia evolutiva de la ploidía. Puede formarse una idea de la importancia de la poliploidía en las plantas cultivadas por la relación que acompaña del número de cromosomas en las especies cultivadas y silvestres.²⁵

Una proporción grande de las especies de plantas superiores son poliploides, es así que 36% de las angiospermas son poliploides, pero entre 70 y 80% pueden presentar ploidía en su historia evolutiva, además, se alcanzan altos niveles de ploidía en varios géneros.²⁵

2.12. Estudios de cromosomas en vegetales

El número de cromosomas es un dato útil en el estudio de una especie y en la caracterización del germoplasma. Nos puede mostrar las relaciones existentes entre especies dentro de un género o familia y clarificar el origen de los híbridos naturales y variedades cultivadas. Además, gran parte de las características reproductoras y evolutivas de las especies se explican por el conocimiento de sus rasgos citológicos.²⁵

El ciclo celular, número y morfología cromosómica se estudian en las células en división de los tejidos meristemáticos, el endosperma de las semillas o en el polen. Los cromosomas se ven mejor en células de tejidos que no contengan sustancias almacenadas. Por ello el estudio de los cromosomas se realiza principalmente en láminas preparadas a partir del meristemo radicular, la base de hojas jóvenes, los conos de crecimiento del tallo, así como en láminas de polen.²⁵

El número de cromosomas se observa mejor durante la metafase, periodo en el cual los cromosomas están fuertemente espiralados y permiten su observación como organelos adoptando una estructura determinada. Las mejores observaciones se logran después de tratar los tejidos con fijadores y colorantes especiales.²⁵

En la actualidad se usan varias técnicas para estudiar los cromosomas en los tejidos de las plantas. La técnica del aplastado (squash) es la más usada por su simplicidad y rapidez. Las etapas de pretratamiento, fijación y tinción de las células utilizado para la técnica de aplastado pueden variar, especialmente los reactivos químicos y tintes que se usan. Estas etapas dependen del estudio que se va a realizar y funcionamiento del citólogo que la emplea.²⁵

2.13. Contaje cromosómico

Recuento de cromosomas mitóticos de papa

Los primeros citólogos desarrollaron métodos basados principalmente en el uso de la parafina y el corte al micrómetro de secciones finas de la punta de la raíz para la observación de cromosomas bajo el microscopio óptico. Esta metodología dio buenos resultados en su tiempo, hasta la aparición de la técnica de aplastado de puntas de raíz con tinción monocromática descrito por Talledo et. al, conocido como "squash", que consiste en un número de pasos a seguir desde la obtención de raíces, hasta la observación de los cromosomas bajo el microscopio óptico.²⁶

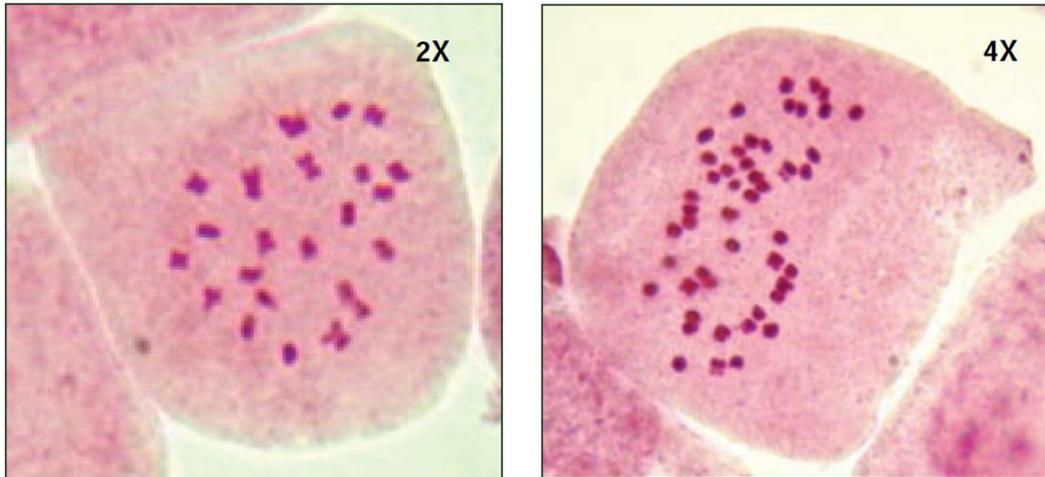


Figura 1. Observación de células en metafase de raíces de papa, ploidías 2x (diploide) y 4x (tetraploide)³⁰.

Las células de un organismo poseen cromosomas, pero estos sólo son evidentes cuando la célula se encuentra en división mitótica.²⁶ Por eso, 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. Los tejidos meristemáticos localizados en la zona apical de la raíz son los más utilizados en citología para el recuento y análisis de cromosomas mitóticos. Las raíces pueden obtenerse por germinación de las semillas sexuales en placas de Petri bajo condiciones asépticas, o mediante el enraizamiento de esquejes, brotes u órganos de reserva, en un sustrato apropiado (musgo, perlite, grava, agua corriente).²⁶

2.14. Estomas

Los estomas son aberturas o poros en la epidermis rodeada de dos células especializadas, denominadas células guardianas u oclusivas, el poro se continúa internamente como una cámara subestomática, la cual se comunica con el espacio intercelular del mesófilo, los estomas pueden encontrarse tanto en hojas, rizomas, plantas acuáticas, pétalos, estambres y gineceo.²⁷ La mayor parte de la transpiración se hace por los estomas, aun cuando el poro (ostíolo) está cerrado, siendo su diámetro 0,2 μm . El número de estomas por hoja varía mucho de una especie a otra. La luz es un factor que influye en el mecanismo de cierre y apertura de los estomas en condiciones normales de humedad, temperatura y viento. Los cloroplastos están rodeados por una membrana y poseen formaciones donde se encuentra la clorofila, distribuida en el estroma, esta arquitectura le permite a la clorofila utilizar la energía lumínica, absorbiendo fotones. Los cloroplastos de los estomas tienen una respuesta específica a la luz

azul, con un espectro de acción semejante a la apertura de estomas, por lo que se piensa que interviene en la traducción sensorial.²⁸ La función principal de los estomas es regular la pérdida de agua y el ingreso de dióxido de carbono (CO₂), pero la función esencial es el mantenimiento de la homeostasis de la planta, es decir la regulación del medio interno mientras interactúa con el medio ambiente.²⁸

2.15. Clasificación de los tipos de estomas

Existen diversas clasificaciones de estomas, algunas atienden a la morfología y otras consideran el origen ontogenético, es así que según vista la epidermis en superficie, los estomas se clasifican por la morfología que a veces coincide con su ontogenia.²⁹ Algunos tipos de estomas de acuerdo al número de células epidérmicas diferenciadas que acompañan a las células oclusivas y su ubicación respecto a éstas son:

Actinocíticos: Las células anexas rodean al estoma y están dispuestas con su eje mayor en sentido radial respecto al centro del estoma.²⁹

Anomocíticos: No presentan células anexas o acompañantes, es decir, las células que rodean al estoma no presentan diferencias con las otras células epidérmicas. Ejm. La familia Fabaceae.²⁹

Anisocíticos: Poseen tres células anexas, las tres de diferente tamaño. Ejm. La familia Vervaceae.²⁹

Ciclocíticos: Las células anexas en número mayor a cuatro, se disponen en ciclos alrededor del estoma.²⁹

Paracíticos: Poseen dos células anexas con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal de las células oclusivas. Se observan en las familias Poaceae, Lauraceae y otros.²⁹

Tetracíticos: El estoma posee cuatro células subsidiarias, dos paralelas a las células oclusivas del estoma y las otras dos en los extremos. Por ejemplo la familia Arecaceae.²⁹

2.16. Relación de ploidía y características de los estomas

Las modificaciones de los niveles de ploidía presentan una relación con los estomas; si se modifica el número de juegos de cromosomas, estos pueden modificar las características como el largo y ancho de los estomas, así como, la densidad estomática de manera positiva o negativa y la cantidad de cloroplastos que presentan las células guardas de los estomas.³⁰ Al estudiarse la relación del nivel de ploidía con el tamaño y densidad de los estomas, con híbridos de

plátano, se encontró que el tamaño de los estomas presenta una relación positiva con el nivel de ploidía pero la densidad de estomas era de forma negativa. Se encontró que en las células oclusivas y el número de cloroplastos efectivamente distingue el nivel de ploidía, concluyéndose que el nivel de ploidía tuvo una influencia en el número de cloroplastos.³⁰



Figura 2. A) Partes de un estoma B) genotipo tetraploide (flecha, 12 cloroplastos en célula guardia), C) genotipo diploide (flecha, 7 cloroplastos en célula guardia). Aumento 400X. Barra 10 µm.³¹

2.17. Densidad estomática de *Solanum tuberosum*

Se reportan valores de índice estomático de cuatro accesiones de papa (*Solanum tuberosum* L.), en el cual los investigadores encontraron 3 tipos de estomas: anomocítico, anisocítico y paracítico, en ambas epidermis de la hoja predominan los anomocíticos y anisocíticos, y en menor medida los paracíticos. Los valores más altos de Densidad Estomática (DE), tanto en la epidermis adaxial como abaxial, son 149,9 y 400,0 estomas/mm² respectivamente.³²

2.18. Relación ploidía cloroplastos

La relación que existe entre la ploidía y el número de cloroplastos es debido principalmente a que el genoma extranuclear que poseen los cloroplastos es suplemento del genoma nuclear, por lo cual mientras mayor sea el nivel de ploidía de la especie, mayor será la cantidad de cloroplastos que complementen la información genética.³³

El promedio del número de cloroplastos puede dar una aproximación de la posible ploidía que presenta la papa.

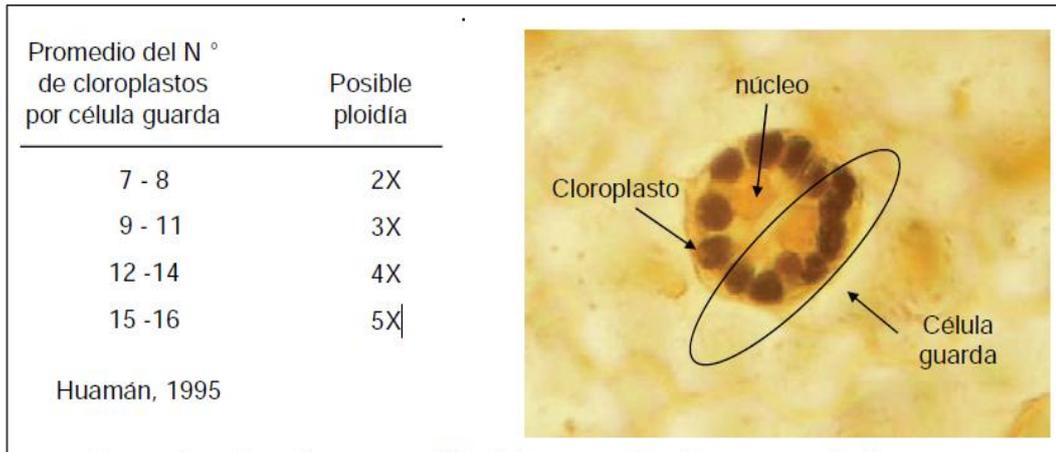


Figura 3. Promedio del número de cloroplastos y su posible ploidía³⁴.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tubérculos de cultivares de papa nativa

El material biológico empleado fueron tubérculos de 150 cultivares de papa nativa (raíces tiernas y hojas bien establecidas) de la colección de la Estación Experimental Agraria “Canaan” perteneciente al INIA-Ayacucho, como parte del proyecto: N° 016_Pi: “Desarrollo de variedades de papa mejorada y nativa para consumo directo y procesamiento, con calidad nutricional, adecuadas al cambio climático”. Dichos tubérculos presentaron entre 2-3 meses de haber sido cosechados.

3.2. Siembra de tubérculos y Contaje de cromosomas en meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa

Se realizó en el Laboratorio de Cultivo *In vitro* de Papa de la Estación Experimental Agraria “Canaan” y también en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga de acuerdo al Manual Técnico. Biología Reproductiva y Citogenética de la Papa.³⁵

a) Enraizamiento

Para el enraizamiento se utilizaron 3 tubérculos de cada accesión que se sembraron en macetas dentro del invernadero de la Estación Experimental Agraria “Canaan”.

b) Pretratamiento

Utilizando una pinza de punta fina se colectaron las puntas de las raíces (1 cm) en un número de 5-6 raíces de cada muestra, se realizó el lavado de las mismas en agua destilada, luego se colocó en tubos Eppendorf[®] con 0,3 ml de 8-hidroxiquinoleína al 0,002M por espacio de 5 h a 4 °C.

c) Hidrólisis

Se retiró el 8-hidroxiquinoleína de los tubos con las muestras, se lavó con agua destilada y se añadió HCl 1N precalentado a 60 °C y se incubó 8 min a la misma

temperatura. Transcurrido el tiempo de hidrólisis se procedió a lavar el ácido con agua destilada.

d) Tinción

Las raíces lavadas se sumergieron en orceína-acética al 2% por un tiempo de 15 min.

e) Squash

Sobre una lámina porta objetos se colocaron las raíces (aproximadamente 3) y con la ayuda de un bisturí se cortó 1-2 mm de la punta de las raíces, se añadió 1 gota del colorante y se cubrió con una laminilla cubreobjetos, se realizó una presión de tal manera que el tejido radicular fue aplastado y sobre todo se evitó movimientos laterales. Se observó al microscopio con el objetivo de mayor aumento a 100X, se fotografió y se reportó el número de cromosomas metafásicos presentes en 6 células de cada muestra.

3.3. Contaje de cloroplastos en el mesófilo de folíolos del envés de las hojas de cultivares de papa nativa

Para el conteo de cloroplastos se utilizó también el método descrito en el Manual Técnico. Biología Reproductiva y Citogenética de la Papa.³⁵

En el invernadero se sembraron tubérculos en macetas con tierra negra, se regó periódicamente hasta la formación de hojas bien establecidas, luego se colectaron los folíolos terminales de la planta y se colocó en un recipiente con papel toalla humedecido con agua, con ayuda de una pinza fina se obtuvo el tejido epidérmico del envés de la hoja, de la zona próxima a las nervaduras e inmediatamente se colocó sobre una lámina portaobjetos donde previamente se colocaron una a dos gotas de lugol, luego se volvió a colocar muy suavemente sobre la muestra otras dos gotas de lugol y se cubrió suavemente con una laminilla cubreobjetos. La preparación se examinó bajo el microscopio óptico con el objetivo de 40X, el contaje de cloroplastos se realizó en una de las células guarda de los estomas.

IV. RESULTADOS

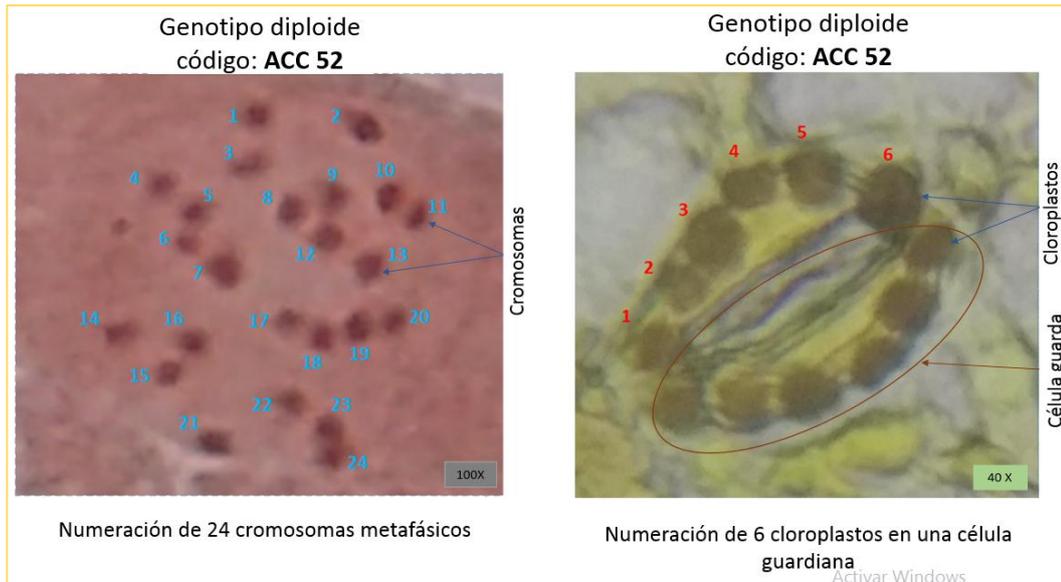


Figura 4. Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía correspondiente.

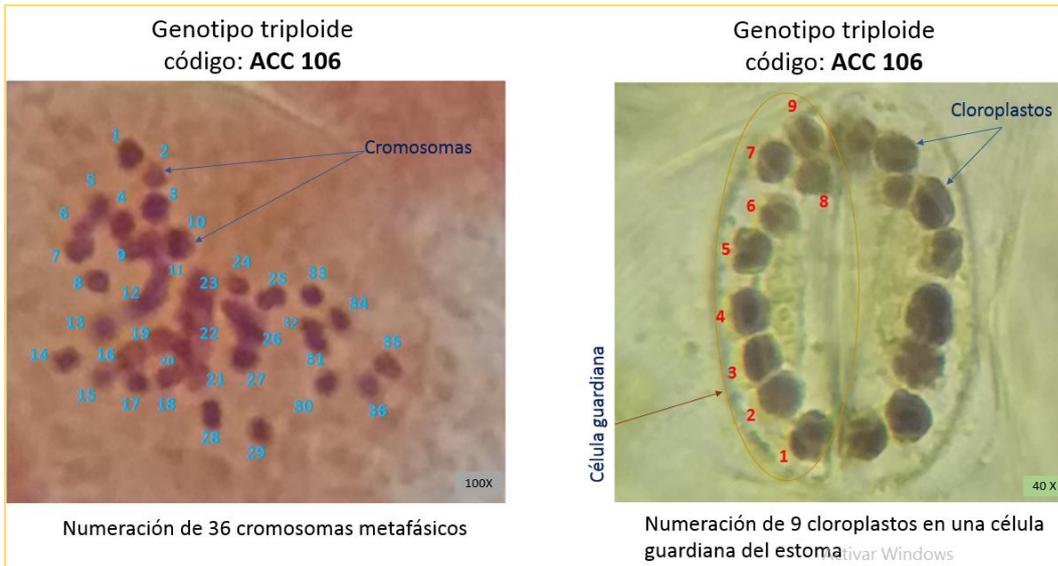


Figura 5. Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía correspondiente.

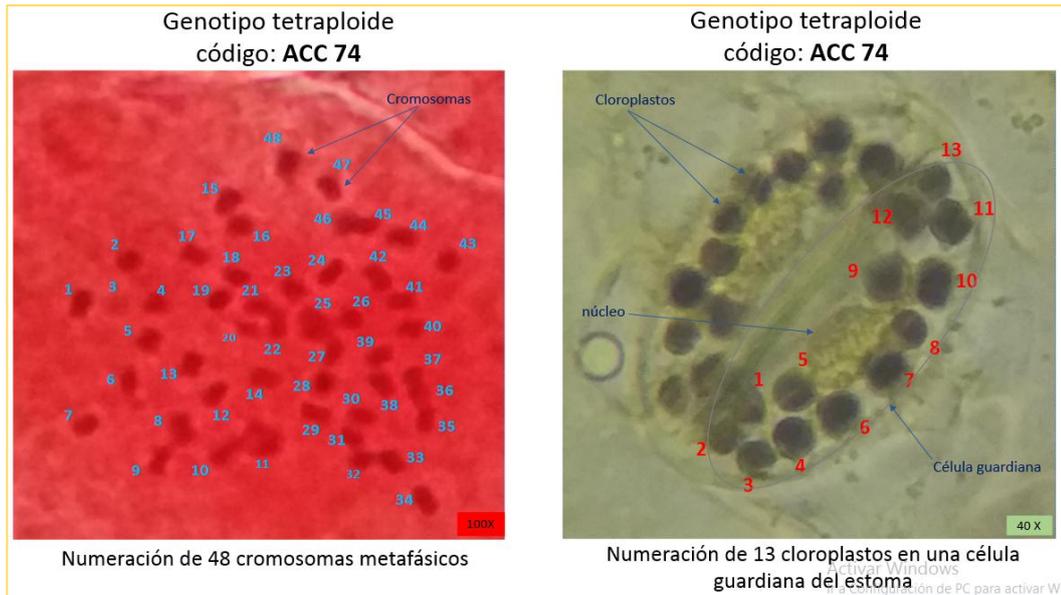


Figura 6. Número de cromosomas metafásicos y número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. Se indica el código respectivo y su nivel de ploidía (tetraploide).

Tabla 1. Niveles de ploidía, número de cultivares y porcentaje de ploidía tras el conteo del número de cromosomas y cloroplastos de 150 cultivares de papa nativa.

Niveles de ploidía	Número de cultivares	% de ploidía
2n= 2x	133	88,7
2n=3x	15	10,0
2n=4x	2	2
Total	150	100

Tabla 2. Niveles de ploidía y promedio del número de cloroplastos del mesófilo de folíolos de 150 cultivares de papa nativa.

Niveles de ploidía	Promedio del número de cloroplastos
2n= 2x	8±0.97
2n=3x	11±1.37
2n=4x	13±0.12

V. DISCUSIÓN

De los 150 cultivares de papa nativa fue posible conocer la ploidía de la totalidad de las muestras por el método del conteo de cromosomas metafásicos y el conteo de cloroplastos de los estomas del mesófilo de los folíolos, de los cuales se obtuvo que 133 (88.7%) cultivares nativos de papa son diploides, 15 (10.0%) son triploides y 2 (1.3%) son tetraploides. El método del “squash” para la determinación de nivel de ploidía³⁵ demostró ser eficiente para estimar el nivel de ploidía de los cultivares nativos de papa. Sin embargo; existen métodos directos e indirectos alternativos para estimar el número de cromosomas y consecuentemente el nivel de ploidía de una especie vegetal, uno de ellos es por Citometría de Flujo.¹ A pesar de ello el conteo de cromosomas en células meristemáticas es el método inequívoco para la determinación del número de cromosomas y nivel de ploidía de una especie.²

Existen 8 especies de papa cultivada que son: *S. stenotomum* (2x), *S. goniocalix* (2x), *S. phureja* (2x), *S. ajanhuiri* (2x), *S. juzepczukii* (3x), *S. chaucha* (3x), *S. tuberosum* (4x) y *S. curtilobum* (5x). Dentro de esta clasificación se encuentran los cultivares de papa nativa de la sierra central y sur del Perú.⁸

Sin embargo; en la última revisión taxonómica realizada se reclasifica a la papa cultivada en tan solo 4 especies: (i) *S. tuberosum*, con dos grupos de cultivares (grupo Andígena con variedades diploides, triploides y tetraploides de los altos Andes y grupo Chilotanum con variedades tetraploides de las tierras bajas chilenas); (ii) *S. ajanhuiri* (diploide), (iii) *S. juzepczukii* (triploide) y (iv) *S. curtilobum* (pentaploide)⁹. Por lo cual los cultivares de papa nativa de la colección de la Estación Experimental Agraria “canaan” posiblemente sean del grupo Andígena pues presentan las mismas ploidías halladas; diploide, triploide y tetraploide.

Los resultados presentados en la Tabla 1. evidencian la presencia de una mayor cantidad de cultivares de papa nativa diploide ($2n = 2x = 24$) en las muestras

analizadas. Después de realizar el conteo de cloroplastos en células guarda y el conteo de cromosomas metafásicos en células somáticas de punta de raíz de 30 accesiones de papa nativa *S. tuberosum* grupo Andígenum, identificó tres accesiones diploides ($2n=2x=24$), que a la vez, presentaron 7 a 8 cloroplastos en las células guarda, el resto de accesiones fueron tetraploides ($2n=4x=48$) que a su vez, presentaron 12 a 14 cloroplastos en sus células guarda.⁴ Estos resultados son similares con lo hallado debido a que para la zona altoandina de Perú se ha reportado mayor cantidad de papas con genotipo diploide.

Las papas diploides ($2n = 2x = 24$) de la especie *S. stenotomum*, cultivada en la zona Altoandina, es una de las especies que muestra una enorme variabilidad genética. La especie *S. goniocalix* trae muy pocas variedades, siendo una de ellas la famosa “papa amarilla” de excelente calidad culinaria del centro del Perú. La especie *S. phureja* fue domesticada en la zona de los páramos húmedos y templados del norte, caracterizado por la ausencia de latencia de sus tubérculos y también por su precocidad. En el altiplano fue domesticada la especie *S. ajanhuiri* similar a las anteriores pero resistente a las heladas, se cree que esta especie proviene de la hibridación natural de *S. stenotomum* por *S. megistacrolobum*.¹⁹ El tamaño de estos tubérculos es pequeño con diferentes texturas y color externo variado.

Las papas triploides ($2n = 3x = 36$) son papas estériles por su ploidía impar, lo cual dificulta el apareamiento de cromosomas homólogos en la meiosis. La especie más conocida en el Centro y Sur del Perú es *S. chaucha*, la cual es el resultado de una hibridación natural de *S. tuberosum* ($2n=4x=48$) por la especie diploide *S. stenotomum* ($2n=2x=24$). La variedad de mayor popularidad y comercialización es la papa “huayro”¹⁹. En el altiplano se cultiva intensamente desde hace miles de años la especie triploide *S. juzeepzukii*. Los clones o variedades de esta especie son conocidas como “papas amargas” (alto contenido de solanina) y se cultivan en promedio los 4 000 m.s.n.m. de esta variedad se elabora el chuño y la moraya.¹⁹ El origen y evolución de *S. juzeepzukii* es muy interesante y misterioso. Evidencias citogenéticas y agrobotánicas indican que se originó en el altiplano por hibridación natural de la especie cultivada diploide *S. stenotomum* ($2n = 2x = 24$) y la especie altoandina silvestre *S. acaule* ($2n = 4x = 48$).¹⁹ Se debe señalar que los tubérculos de estos cultivares presentan un tamaño relativamente mayor que los diploides.

Las papas tetraploides ($2n = 4x = 48$) están englobadas en dos subespecies: *S. tuberosum* ssp *andígena* y *S. tuberosum* ssp *tuberosum*. Esta especie tiene una

amplia distribución en los Andes desde el Ecuador hasta Bolivia. Sus variedades son de gran rendimiento y amplia adaptación. Las papas tetraploides Andígena se originaron por ploidización natural a partir de sus antecesores primitivos diploides. Las papas tetraploides son de alto rendimiento y relativa susceptibilidad a plagas y enfermedades¹⁹. Se debe mencionar que el tamaño de sus tubérculos es mucho mayor que los triploides y sobre todo en comparación con los diploides.¹⁹

El efecto que puede manifestar la poliploidía es aumentar el tamaño de las porciones vegetativas de la planta, que hace que los autopoliploides sean más frondosos y algo más vigorosos que sus progenitores correspondientes diploides. Sin embargo, este efecto no es general y muchos autopoliploides son débiles y pocos vigorosos. Algunos investigadores creen que en cada grupo de plantas existe un nivel óptimo de poliploidía; en el caso de la papa el nivel tetraploide. En la mayoría de los grupos este óptimo parece alcanzar niveles bastantes bajos de autopoliploidía, pero en algunos los octoploides o poliploides aún más altos son todavía tipos vigorosos. Los efectos fisiológicos y fenotípicos de la aloploidía son, por lo menos, tan difíciles de predecir como los de la autoploidía. Sin embargo, en general los aloploidios combinan más o menos entremezcladas las características de las especies de que se derivan.²³

Un fenómeno ocurrido es que se observaron células con 37 y 38 cromosomas. Estos resultados posiblemente se deben a artefactos sueltos de la técnica empleada, o a la fragmentación de los cromosomas, un cromosoma en el caso de 37 y dos cromosomas en el caso de 38. Otra causa podría ser la eventual ruptura de la pared celular ocasionando la dispersión y mezcla de los cromosomas. Otra causa es que pudo haberse producido una trisomía en un par para el caso de 37 cromosomas, y una duplicación para el caso de 38 cromosomas.

La cantidad de cloroplastos en una célula guardiana de un estoma es variable respecto a cloroplastos de otros estomas de la misma hoja, sin embargo estos datos son complementarios al conteo del número de cromosomas metafásicos, lo que nos da una aproximación mayor de certeza del nivel de ploidía verdadero.³⁵

La relación que existe entre la ploidía y el número de cloroplastos es debido principalmente a que el genoma extranuclear que poseen los cloroplastos es suplemento del genoma nuclear, por lo cual mientras mayor sea el nivel de

ploidía de la especie, mayor será la cantidad de cloroplastos que complementen la información genética.³⁴

VI. CONCLUSIONES

1. A partir de 150 cultivares de papa nativa, se determinó que 133 cultivares son diploides ($2n = 2x = 24$), (88.7%), 15 son triploides ($2n = 3x = 36$), (10.0%) y 2 son tetraploides ($2n = 4x = 48$), (1.3%), con promedio 8 ± 0.97 , 11 ± 1.37 y 13 ± 0.12 cloroplastos para niveles de ploidía diploide, triploide y tetraploide respectivamente.
2. El número cromosómico de los 150 cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria "Canaan" presentaron 24 cromosomas para los diploides, las papas triploides presentan 36 cromosomas y los tetraploides 48 cromosomas.
3. El número de cloroplastos de los cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria "Canaan" presentaron en promedio 8 ± 0.97 cloroplastos en una célula guardiana para el caso de los diploides, para los triploides 11 ± 1.37 cloroplastos y los tetraploides 13 ± 0.12 cloroplastos en una célula guardiana.

VII. RECOMENDACIONES

1. Proteger los reactivos empleados en el tratamiento de las muestras, esto debido a que variaciones en su composición, concentración y la exposición a la luz sobre todo del reactivo 8-hidroxiquinoleina pueden alterar la acción esperada de dichos reactivos sobre las muestras tratadas.
2. Realizar un correcto y adecuado Squash evitando sobre todo realizar movimientos laterales como también evitar ejercer excesiva presión sobre el portaobjetos, dicha acción logra obtener una mejor imagen bajo el microscopio.
3. Iniciar el pretratamiento en horas de la mañana entre las 08 am y 11 am, con el fin de retener la mayor cantidad de procesos mitóticos en el meristemo apical de la raíz.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Costich D, Ortiz R, Meagler T, Brederte L. Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blueberry by flow cytometry. *Theoretical and Applied Genetics*.1993; 86: 1001-1006.
2. Chong S, Ozias P. Rapid estimation of ploidy levels *in vitro* regenerated interspecific *Arachis* hybrids and fertile triploids. *Euphytica* 1992; 64: 183-188.
3. Orrillo M, Bonierbale M. *Biología Reproductiva y Citogenética de la Papa Manual Técnico*.2009; Centro Internacional de la Papa. (CIP).
4. Sánchez M. Determinación de la ploidía en accesiones de papas nativas (*Solanum tuberosum* grupo Andigenum) procedentes del Banco de Germoplasma vegetal de CORPOICA, *Respuestas 2017*, Vol. 22, N°. 2, pp. 6-13.
5. Hawkes J. *History of the Potato In: The potato Crop*. Ed. Paul Harris Chapman y Hall. London. 1992 Great Britain.
6. Sevilla R, Holle M. *Recursos Genéticos Vegetales*. Ed. Torre Azul. 2004 Lima, Perú.
7. Ochoa C. *Las Papas de Sudamérica: 1999 Perú*. CIP.
8. Huamán Z. *Botánica Sistemática y Morfología de la Papa*. En: *Boletín de información Técnica 6*. Centro Internacional de la Papa. 1986. Segunda edición. Lima Perú. 2003; P 22.
9. Spooner D, Nuñez J, Trujillo G, Herrera M, Guzman F, Ghislain M. Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104:19398–19403.Engel F. Explorations of the Chilca Canyon, Peru. *Current Anthropol*. 1970. 11: 55-58.
10. FAO. *Estadísticas de producción de cultivos de la organización para la alimentación y agricultura de las Naciones Unidas. 2017 (FAOSTAT 2017)*.
11. Engel F. Explorations of the Chilca Canyon, Peru. *Current Anthropol*. 1970. 11: 55-58.
12. Rodríguez L. Origen y evolución de la papa cultivada, una revisión. *Agronomía colombiana*. 2010; 28(1), 9–17.
13. Estrada R. *La Biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa*. PROINPA/CIA/CIP. 2000; Bolivia.
14. Vasquez A. *Mejoramiento genético de la papa*. Primera edición Amaru editors – CONCYTEC.1998 Lima-Perú.
15. Rochambeau H, Fournet F, Vu J. Measuring and managing genetic variability in small populations. *Ann. Zootech*. 2000. 49:77-93.
16. Mendoza H, Haynes F. Genetic relationship among potato cultivars grown in the United States. *Hort. Science*, 1974. 9:328-330.
17. Hawkes J. *The potato evolution biodiversity and genetic resources*. Belhaven Press. London UK.1990 p: 259.
18. Chávez A. *Sobre el Origen, Evolución y Diversidad Genética de la papa Cultivada y Silvestre*. Ciencia y Desarrollo. 2010. 9-17.
19. Gomez R, Roca W, Ordinola M, Manrique K, Julca P. *Papas nativas del Perú. Catálogo de variedades y usos gastronómicos*. Ministerio de agricultura. 2008. Primera edición.
20. Ayala F, Kiger J. "Genética Moderna". Edición Omega Barcelona – España. 1984; 11,15p.
21. Standfield W. *Genética*. Tercera edición. Colombia. 1992; 225 p.
22. Grant R. *Estructura de Cromosomas. Fundamentos y apuntes*. Ecuador. 1997; 92 p.

23. Otto S, Whitton J. Polyploid incidence and evolution. Annual Review of Genetics. Vol. 34. 2000. 401-437.
24. Winchester A. Genética. Tercera edición. México. 1981: Compañía Editorial Continental.
25. Grant R. Estructura de Cromosomas. Fundamentos y apuntes. Ecuador. 1997; 92 p.
26. Talledo D y Escobar C. Genética de las Células Somáticas de Raíces y Tuberosas Andinas. Contribuciones al Conocimiento y a la Capacitación. Universidad Ricardo Palma. Lima-Perú. 2004; pp. 77-94.
27. Rojas M, y Rovalo M. Fisiología vegetal aplicada. McGraw-Hill . 1981; pp. 158-175.
28. Flores E. La planta; estructura y función. LUR. Cartago, Costa Rica. 1999; pp 884.
29. Metcalfe C, Chalk L. Anatomy of Dicotyledons. 1979. Vol. 1. Clarendon Press Oxford.
30. Simmonds N. Genetical and cytological studies of *Musa* x. estomatal size and plant vigour in relation to polyploidy. J. Genet. 1948; 49:57-68.
31. Ordoñez B, Orrillo M, Bonierbale M. Manual biología reproductiva y citológica de la papa. Lima (Perú). Centro Internacional de la Papa (CIP). 2016; ISBN 978-92-9060-477-8. 2a ed. 65 p.
32. Morales A, Guerrero V, Morales A, Rodriguez S. Caracterización Estomática De Cuatro Variedades De Papa (*Solanum tuberosum* L.). Rev. Agricultura Tropical 2016; Vol. 2 No. 1:9-17, 2016 RNPS: 2397 (Versión electrónica).
33. Orrillo M. Ploidía de solanáceas. CIP-Lima 2003 (Versión electrónica).
34. Huamán Z. Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Guía de investigación. 1995. CIP. 10.
35. Orrillo M, Bonierbale M. Manual técnico. Biología reproductiva y citogenética de la papa. Centro Internacional de la Papa (CIP) 2009.
36. Metcalfe C, Chalk L. Anatomy of Dicotyledons. 1979. Vol. 1. Clarendon Press Oxford.

ANEXOS

Anexo 1. Preparación del reactivo 8-hidroxiquinoleína 0.002 M

Pesar 0,29 g de 8-Hidroxiquinoleína y disolver en 25 ml del solvente escogido (generalmente alcohol) y se agrega el agua destilada poco a poco haciéndola deslizar muy lentamente por una bagueta o vara de vidrio, evitando la precipitación de solución hasta completar 1 l. Usar un frasco oscuro y guardar a medio ambiente. Tratamiento por un mínimo de 3 horas, lo óptimo sería 5 horas a 15 °C.

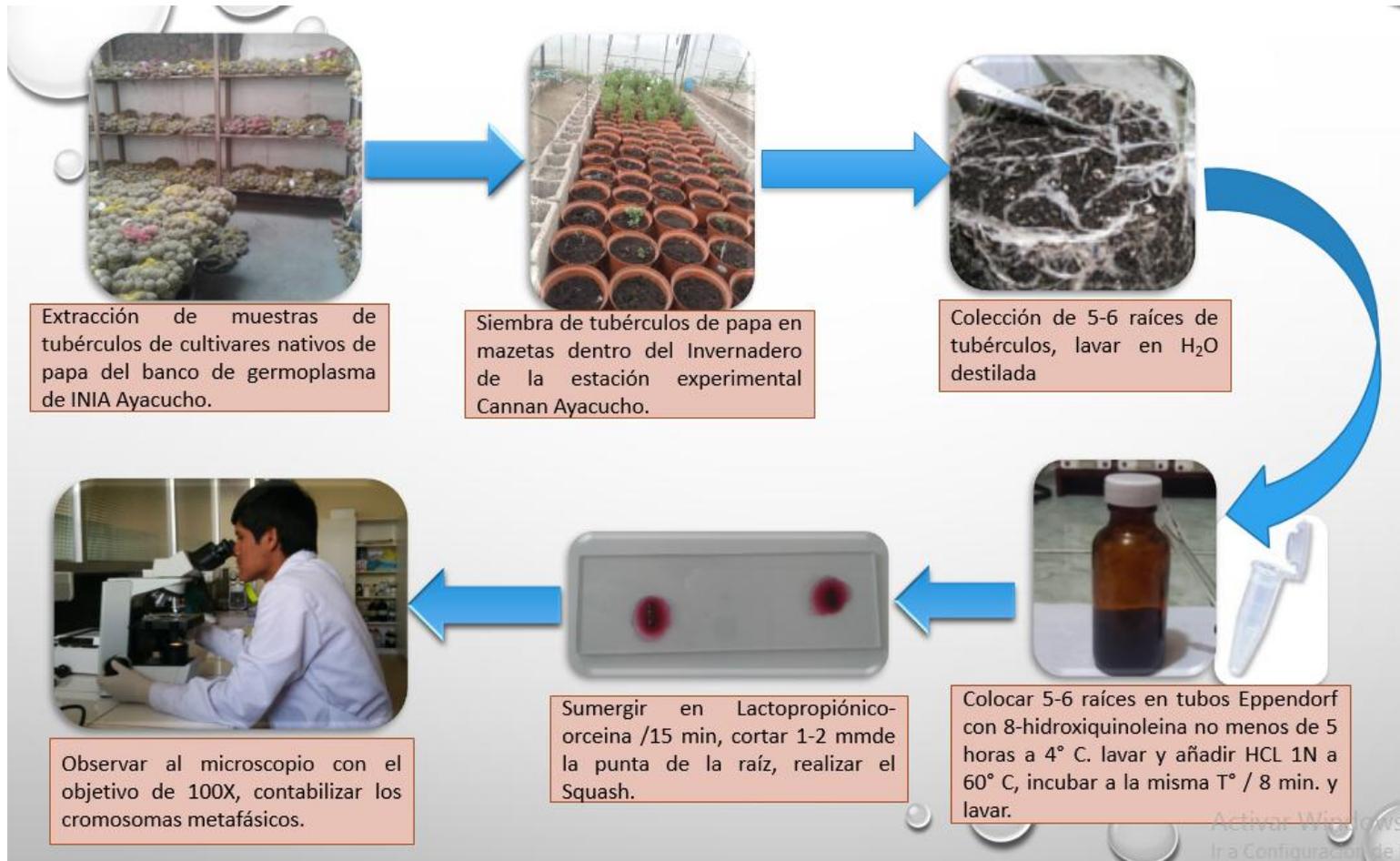
Anexo 2. Preparación de la solución KI – I (Lugol)

Pesar 1 gr de KI (Ioduro de Potasio), pesar 1 gr de I (Iodo), ambos reactivos disolver en 100 ml de Etanol al 70%, guardar en frasco oscuro.

Anexo 3. Preparación de la solución Lacto-propiónico orceína

Disolver 1 g de orceína en una mezcla de 23 ml de ácido láctico y 23 ml de ácido propiónico a temperatura ambiente, completar a 100 ml con agua destilada, agitar bien y filtrar, NOTA: Para obtener buenos resultados es necesario tener muy buenas raíces, finas, no muy gruesas; las plantas deben estar en perfecto estado de desarrollo.

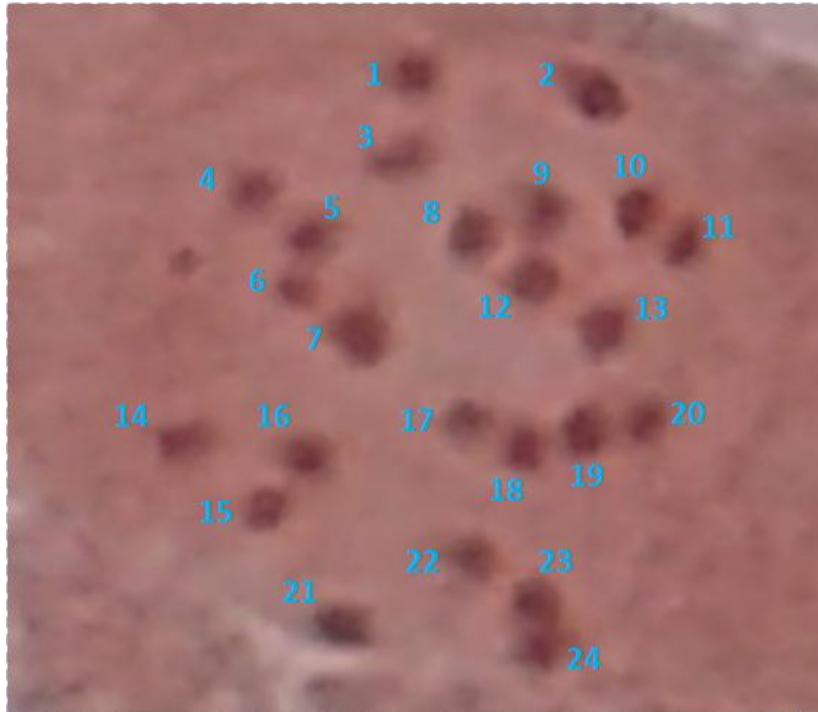
Anexo 4. Proceso de metodología para el conteo de cromosomas metafásicos en el meristemo apical de la raíz de tubérculos de cultivares de papa nativa.



Anexo 5. Proceso de metodología para el conteo de cloroplastos en los estomas de los folíolos de cultivares de papa nativa.



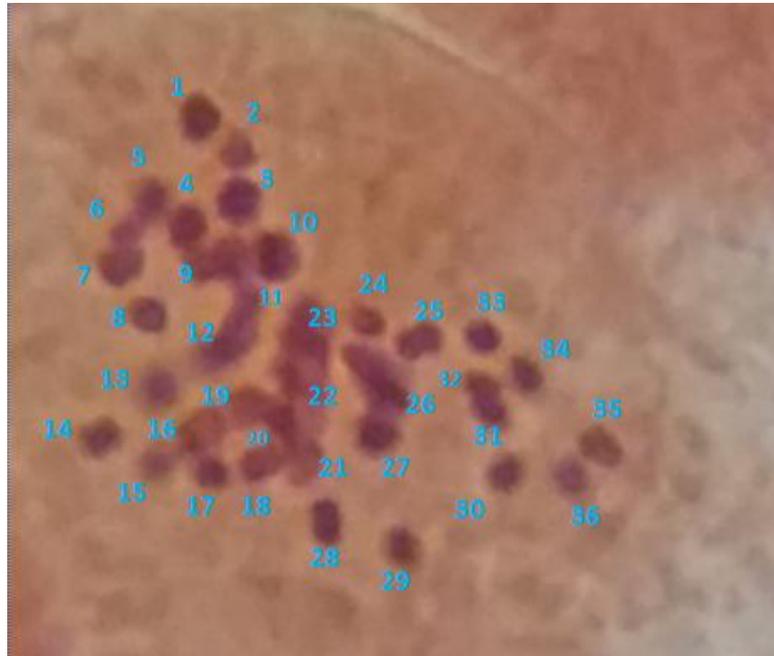
Anexo 6. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: **ACC 52**, genotipo diploide.



Anexo 7. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: **ACC 52**, genotipo diploide.



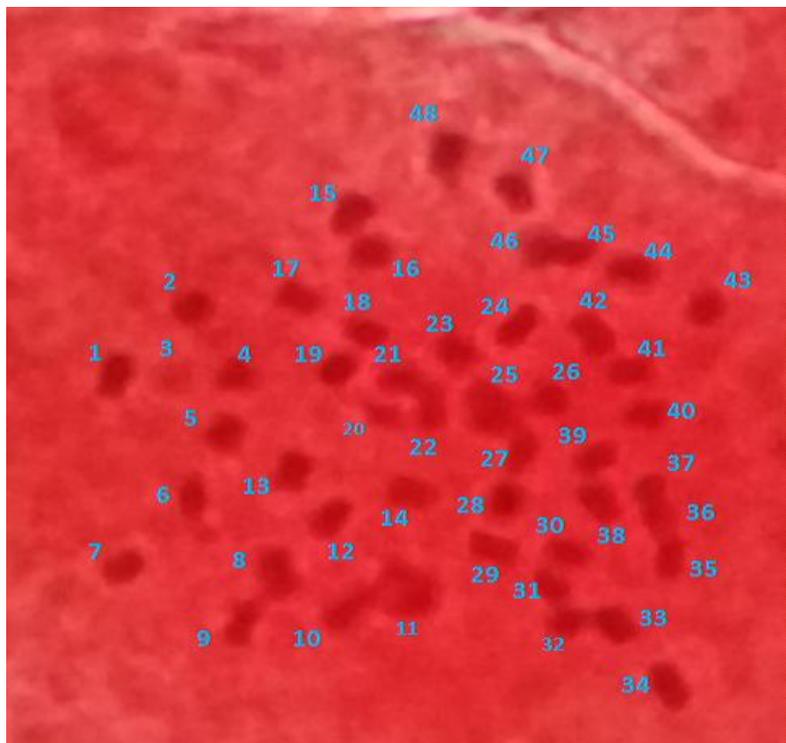
Anexo 8. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: **ACC 106**, genotipo triploide.



Anexo 9. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: **ACC 106**, genotipo triploide.



Anexo 10. Imagen de cromosomas metafásicos de una célula del meristemo apical de la raíz de cultivares de papa nativa, código: **ACC 74**, genotipo tetraploide.



Anexo 11. Imagen de cloroplastos de una célula guardiana de un estoma del mesófilo de folíolos de cultivares de papa nativa, código: **ACC 74**, genotipo tetraploide.



Anexo 12. Fotografía de la colección de cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria “cannan”, INIA Ayacucho.



Anexo 13. Fotografía de plantas de la colección de cultivares de papa nativa, cultivadas en el invernadero de la Estación Experimental Agraria “cannan”, INIA Ayacucho.



Anexo 14. Número de cromosomas y cloroplastos diploides de cultivares de papa nativa.

CODIGO	NÚMERO DE CROMOSOMAS									NÚMERO DE CLOROPLASTOS								
	RAIZ 1			RAIZ 2			\bar{X}	N°	PLOIDÍA	HOJA 1			HOJA 2			\bar{X}	N°	
	C1	C2	C3	C1	C2	C3				C1	C2	C3	C1	C2	C3			
ACC 17	25	26	26	25	26	24	25	24	2n	8	8	7	7	7	9	7.7	8	
ACC 19	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	7	9	8	8	7	7.7	8	
ACC 21	24	22	25	25	22	23	24	24	2n	7	9	9	8	7	8	8.0	8	
ACC 22	24	24	23	23	24	25	24	24	2n	10	8	8	11	8	8	8.8	9	
ACC 23	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	8	7	8	8	8	8	7.8	8	
ACC 24	24	25	26	23	22	23	24	24	2n	8	5	10	10	9	7	8.2	8	
ACC 26	23	24	23	24	24	23	24	24	2n	11	9	8	7	6	8	8.2	8	
ACC 27	24	24	25	25	25	24	25	24	2n	8	8	9	10	7	7	8.2	8	
ACC 28	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	8	8	9	10	7	8	8.3	8	
ACC 30	24	24	23	24	23	24	24	24	2n	7	7	8	7	8	7	7.3	7	
ACC 31	24	24	26	26	25	26	25	24	2n	7	7	7	8	8	7	7.3	7	
ACC 32	24	24	24	25	24	24	24	24	2n	8	9	7	7	11	11	8.8	9	
ACC 34	22	24	21	25	24	22	23	24	2n	6	6	8	7	7	7	6.8	7	
ACC 36	24	23	22	22	24	24	23	24	2n	7	6	7	8	8	7	7.2	7	
ACC 38	26	28	24	26	24	26	26	24	2n	9	8	8	7	10	8	8.3	8	
ACC 39	23	24	23	24	24	23	24	24	2n	6	6	9	8	6	7	7.0	7	
ACC 51	24	24	23	24	24	24	24	24	2n	8	8	6	9	7	6	7.3	7	
ACC 52	24	23	25	24	24	24	24	24	2n	5	9	7	6	7	7	6.8	7	
ACC 53	24	23	24	21	24	24	23	24	2n	6	6	9	7	7	8	7.2	7	
ACC 54	24	24	25	23	25	24	24	24	2n	7	7	9	8	7	8	7.7	8	
ACC 55	23	23	24	24	24	24	24	24	2n	9	7	10	8	9	9	8.7	9	
ACC 56	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	8	9	10	9	9	10	9.2	9	
ACC 57	24	23	24	23	23	24	24	24	2n	7	7	10	6	7	7	7.3	7	
ACC 58	24	23	24	24	23	24	24	24	2n	7	10	8	7	12	7	8.5	9	
ACC 59	24	24	25	25	24	25	25	24	2n	8	14	8	7	10	12	9.8	10	
ACC 61	22	24	22	23	23	21	23	24	2n	7	7	8	6	7	7	7.0	7	
ACC 64	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	10	9	10	9	11	9	9.7	10	
ACC 66	23	23	24	25	25	23	24	24	2n	7	7	9	8	7	7	7.5	8	
ACC 67	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	6	7	7	6	7	7	6.7	7	
ACC 68	24	22	24	24	23	24	24	24	2n	10	10	8	8	9	7	8.7	9	
ACC 71	24	26	25	25	26	25	25	24	2n	8	7	7	8	8	8	7.7	8	
ACC 72	24	24	25	24	25	24	24	24	2n	8	6	9	8	8	7	7.7	8	
ACC 75	24	24	23	24	24	23	24	24	2n	10	9	8	9	7	8	8.5	9	
ACC 77	24	26	24	24	23	24	24	24	2n	16	7	8	10	8	15	10.7	11	
ACC 78	23	24	23	23	25	24	24	24	2n	10	8	8	8	7	6	7.8	8	

ACC 79	26	23	25	23	24	24	24	24	2n	9	7	8	8	7	7	7.7	8
ACC 81	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	8	8	15	7	8	8	9.0	9
ACC 82	24	24	24	23	23	25	24	24	2n	8	8	7	7	7	7	7.3	7
ACC 83	24	22	23	23	24	24	23	24	2n	5	8	7	7	7	6	6.7	7
ACC 84	26	26	28	26	26	26	26	24	2n	7	13	10	7	8	8	8.8	9
ACC 85	24	25	23	26	23	24	24	24	2n	9	7	10	8	9	8	8.5	9
ACC 86	22	24	22	23	23	24	23	24	2n	7	7	8	8	8	7	7.5	8
ACC 87	22	24	22	21	23	22	22	24	2n	8	9	9	8	8	7	8.2	8
ACC 88	26	28	26	26	26	24	26	24	2n	10	7	6	8	7	7	7.5	8
ACC 89	24	24	23	24	25	23	24	24	2n	9	7	8	8	7	8	7.8	8
ACC 90	24	24	24	25	24	24	24	24	2n	7	6	9	7	6	9	7.3	7
ACC 91	25	25	24	23	23	24	24	24	2n	8	15	7	8	8	8	9.0	9
ACC 92	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	7	7	7	7	7	7.0	7
ACC 93	22	21	20	25	23	24	23	24	2n	9	9	7	6	7	8	7.7	8
ACC 94	25	26	23	25	23	23	24	24	2n	8	8	7	9	9	7	8.0	8
ACC 95	23	24	22	23	22	24	23	24	2n	6	6	7	6	8	7	6.7	7
ACC 96	24	24	24	24	23	24	24	24	2n	9	8	10	9	8	7	8.5	9
ACC 97	24	23	23	24	23	24	24	24	2n	8	7	9	6	7	7	7.3	7
ACC 98	25	25	23	22	22	23	23	24	2n	5	4	6	6	4	5	5.0	5
ACC 99	23	23	24	24	25	23	24	24	2n	6	7	7	7	7	7	6.8	7
ACC 101	24	24	22	24	24	24	24	24	2n	5	13	8	6	8	7	7.8	8
ACC 102	23	23	24	24	23	24	24	24	2n	8	10	8	7	8	8	8.2	8
ACC 103	24	24	24	23	22	24	24	24	2n	7	7	12	8	7	8	8.2	8
ACC 104	22	25	21	23	22	25	23	24	2n	7	7	9	7	7	7	7.3	7
ACC 105	24	24	24	24	24	23	24	24	2n	8	7	7	7	8	7	7.3	7
ACC 107	23	23	24	24	23	23	23	24	2n	8	8	9	9	13	14	10.2	10
ACC 108	24	24	26	23	24	24	24	24	2n	7	6	9	8	7	6	7.2	7
ACC 109	23	24	24	22	23	24	23	24	2n	7	7	7	8	9	9	7.8	8
ACC 110	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	11	9	8	8	10	7	8.8	9
ACC 111	24	24	25	26	25	24	25	24	2n	8	7	7	7	7	8	7.3	7
ACC 112	24	24	23	24	23	24	24	24	2n	8	8	7	8	8	8	7.8	8
ACC 113	24	24	23	22	24	24	24	24	2n	8	6	8	5	8	8	7.2	7
ACC 114	24	24	25	26	24	24	25	24	2n	7	9	7	8	6	9	7.7	8
ACC 115	24	23	24	24	24	23	24	24	2n	7	9	6	10	7	8	7.8	8
ACC 117	23	23	24	24	24	24	24	24	2n	6	7	7	7	7	7	6.8	7
ACC 118	25	23	20	25	24	23	23	24	2n	7	7	14	7	7	7	8.2	8
ACC 120	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	6	6	5	8	7	7	6.5	7
ACC 121	25	24	24	24	24	24	24	24	2n	8	8	7	6	6	7	7.0	7
ACC 123	22	22	23	24	23	25	23	24	2n	9	9	7	8	8	8	8.2	8
ACC 124	24	23	23	24	24	24	24	24	2n	8	8	8	7	8	7	7.7	8
ACC 125	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	10	7	9	9	7	8	8.3	8

ACC 127	25	24	24	24	25	24	24	24	2n	11	9	8	9	16	17	11.7	12
ACC 128	24	23	24	24	23	24	24	24	2n	9	8	9	9	9	9	8.8	9
ACC 129	22	24	24	22	24	24	23	24	2n	9	8	8	8	8	8	8.2	8
ACC 130	26	25	25	24	24	24	25	24	2n	10	7	7	7	8	7	7.7	8
ACC 131	23	24	24	25	22	23	24	24	2n	9	9	8	9	9	9	8.8	9
ACC 137	24	24	23	26	24	24	24	24	2n	8	12	7	7	6	8	8.0	8
ACC 141	22	23	24	23	24	24	23	24	2n	9	6	7	10	8	7	7.8	8
ACC 142	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	6	8	9	8	7	7.5	8
ACC 144	22	22	24	23	22	23	23	24	2n	7	9	7	9	7	9	8.0	8
ACC 145	22	24	21	20	24	24	23	24	2n	6	8	7	8	6	9	7.3	7
ACC 146	23	24	23	24	24	23	24	24	2n	11	8	10	7	9	7	8.7	9
ACC 162	24	24	23	24	23	24	24	24	2n	6	6	7	8	8	7	7.0	7
ACC 165	24	24	24	24	23	23	24	24	2n	7	7	7	8	8	8	7.5	8
ACC 167	24	24	25	25	26	23	25	24	2n	8	9	9	9	9	9	8.8	9
ACC 168	24	24	23	24	24	24	24	24	2n	7	7	7	7	7	8	7.2	7
ACC 169	24	24	24	24	24	25	24	24	2n	9	9	9	9	9	9	9.0	9
ACC 170	23	23	22	23	24	25	23	24	2n	8	8	7	8	7	8	7.7	8
ACC 171	24	24	24	24	23	24	24	24	2n	8	8	8	7	8	8	7.8	8
ACC 176	23	23	22	23	22	22	23	24	2n	8	9	8	8	8	9	8.3	8
ACC 177	22	24	22	23	22	24	23	24	2n	7	6	8	6	8	8	7.2	7
ACC 186	23	24	24	24	23	24	24	24	2n	6	7	7	8	6	7	6.8	7
ACC 187	24	22	22	23	23	24	23	24	2n	7	7	8	7	7	7	7.2	7
ACC 189	23	23	24	24	24	24	24	24	2n	9	7	5	9	8	8	7.7	8
ACC 190	24	24	23	24	24	24	24	24	2n	6	7	7	8	8	6	7.0	7
ACC 191	24	23	22	24	24	23	23	24	2n	9	9	8	7	7	7	7.8	8
ACC 192	20	24	23	23	22	23	23	24	2n	7	8	7	8	5	8	7.2	7
ACC 193	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	8	22	11	17	7	8	12.2	12
ACC 194	24	24	24	25	24	24	24	24	2n	7	7	9	7	8	6	7.3	7
ACC 195	25	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	7	17	10	14	8	10.5	11
ACC 199	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	10	9	7	8	8	8.2	8
ACC 200	21	23	24	24	23	24	23	24	2n	15	9	6	9	8	7	9.0	9
ACC 201	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	8	6	9	8	6	7.3	7
ACC 202	21	23	24	24	23	24	23	24	2n	8	8	7	8	8	10	8.2	8
ACC 203	24	23	24	24	23	24	24	24	2n	8	6	9	7	10	7	7.8	8
ACC 204	24	24	24	25	25	24	24	24	2n	8	8	8	8	8	8	8.0	8
ACC 205	24	24	24	24	23	24	24	24	2n	7	11	11	8	8	8	8.8	9
ACC 207	23	24	24	22	23	24	23	24	2n	8	8	8	9	8	8	8.2	8
ACC 208	24	23	24	22	24	24	24	24	2n	9	7	9	8	7	7	7.8	8
ACC 210	24	24	24	24	24	23	24	24	2n	6	7	8	7	6	7	6.8	7
ACC 211	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	7	8	6	9	16	8	9.0	9
ACC 212	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	8	12	8	9	8	8	8.8	9

ACC 213	22	25	23	24	23	22	23	24	2n	8	7	7	7	7	7	7.2	7
ACC 221	24	23	24	24	23	24	24	24	2n	9	8	7	7	8	8	7.8	8
ACC 225	24	24	24	25	24	24	24	24	2n	9	9	8	9	9	9	8.8	9
ACC 227	24	23	24	24	24	25	24	24	2n	7	8	7	7	8	8	7.5	8
ACC 228	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	8	8	7	7	8	8	7.7	8
ACC 229	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	7	8	11	8	8	8.2	8
ACC 230	24	24	23	24	24	24	24	24	2n	8	7	7	7	8	10	7.8	8
ACC 231	23	23	24	24	24	24	24	24	2n	7	5	8	6	7	6	6.5	7
ACC 233	23	23	23	24	24	24	24	24	2n	7	7	8	9	9	7	7.8	8
ACC235	24	24	24	23	24	24	24	24	2n	6	5	8	6	7	9	6.8	7
ACC 237	23	23	22	24	24	24	23	24	2n	8	10	7	12	9	10	9.3	9
ACC 238	24	24	24	24	24	23	24	24	2n	7	10	8	9	10	7	8.5	9
ACC 242	24	24	24	24	24	24	24	24	2n	7	8	7	8	8	8	7.7	8
ACC 244	24	24	25	24	24	24	24	24	2n	7	7	7	7	8	8	7.3	7
ACC 249	24	24	24	24	23	24	24	24	2n	9	8	6	7	8	6	7.3	7
ACC 279	23	24	24	23	24	24	24	24	2n	10	8	11	6	7	9	8.5	9

Anexo 15. Número de cromosomas y cloroplastos triploides de cultivares de papa nativa.

CODIGO	NÚMERO DE CROMOSOMAS									NÚMERO DE CLOROPLASTOS							
	RAIZ 1			RAIZ 2			\bar{X}	N°	PLOIDÍA	HOJA 1			HOJA 2			\bar{X}	N°
	C1	C2	C3	C1	C2	C3				C1	C2	C3	C1	C2	C3		
ACC 60	35	36	37	35	35	37	36	36	3X	14	11	13	13	13	14	13.0	13
ACC 62	35	36	37	35	35	36	36	36	3X	14	11	11	10	12	11	11.5	12
ACC 65	34	36	33	34	34	36	35	36	3X	8	6	8	6	9	7	7.3	7
ACC 69	36	32	33	34	35	35	34	36	3X	11	11	9	17	9	11	11.3	11
ACC 106	36	35	35	34	35	35	35	36	3X	9	10	9	11	9	9	9.5	10
ACC 122	36	36	35	35	36	37	36	36	3X	12	11	12	11	12	10	11.3	11
ACC 134	35	36	36	34	36	35	35	36	3X	10	10	9	12	9	10	10.0	10
ACC 139	36	36	37	36	36	36	36	36	3X	12	13	12	11	10	10	11.3	11
ACC 143	35	34	36	36	36	35	35	36	3X	11	12	11	12	12	11	11.5	12
ACC 184	36	36	35	35	36	36	36	36	3X	10	13	10	11	15	13	12.0	12
ACC 185	36	35	36	36	36	37	36	36	3X	11	10	14	10	15	13	12.2	12
ACC 209	37	35	34	34	35	34	35	36	3X	10	10	10	10	11	10	10.2	10
ACC 214	35	36	36	35	37	36	36	36	3X	9	9	10	12	9	10	9.8	10
ACC 224	36	35	36	36	36	36	36	36	3X	12	12	11	10	12	11	11.3	11
ACC 234	38	34	34	36	34	35	35	36	3X	10	12	11	12	14	10	11.5	12

Anexo 16. Número de cromosomas y cloroplastos tetraploides de cultivares de papa nativa.

CODIGO	NÚMERO DE CROMOSOMAS									NÚMERO DE CLOROPLASTOS							
	RAIZ 1			RAIZ 2			\bar{x}	N°	PLOIDÍA	HOJA 1			HOJA 2			\bar{x}	N°
	C1	C2	C3	C1	C2	C3				C1	C2	C3	C1	C2	C3		
ACC 29	45	47	49	48	48	48	48	48	4X	12	14	14	12	12	14	13.0	13
ACC 74	47	48	48	47	48	49	48	48	4X	12	14	13	13	13	12	12.8	13

Anexo 17. Imágenes de tubérculos de los cultivares de papa nativa de la Estación Experimental Agraria Canaán INIA Ayacucho.

		
ACC 17	ACC 19	ACC 21
		
ACC 22	ACC 23	ACC 24
		
ACC 26	ACC 27	ACC 28
		
ACC 30	ACC 31	ACC 32

ACC 36	ACC 38	ACC 39
ACC 51	ACC 52	ACC 53
ACC 54	ACC 56	ACC 57
ACC 58	ACC 59	ACC 61

		
ACC 66	ACC 67	ACC 68
		
ACC 71	ACC 72	ACC 75
		
ACC 77	ACC 78	ACC 79
		
ACC 82	ACC 83	ACC 84

		
ACC 85	ACC 86	ACC 87
		
ACC 88	ACC 89	ACC 90
		
ACC 91	ACC 93	ACC 94
		
ACC 95	ACC 96	ACC 98

		
ACC 99	ACC 101	ACC 102
		
ACC 103	ACC 104	ACC 105
		
ACC 107	ACC 108	ACC 109
		
ACC 110	ACC 111	ACC 112

		
ACC 113	ACC 114	ACC 117
		
ACC 118	ACC 120	ACC 121
		
ACC 123	ACC 124	ACC 125
		
ACC 128	ACC 129	ACC 131

		
ACC 137	ACC 142	ACC 144
		
ACC 145	ACC 146	ACC 162
		
ACC 165	ACC 167	ACC 168
		
ACC 169	ACC 170	ACC 171

		
ACC 176	ACC 177	ACC 186
		
ACC 187	ACC 189	ACC 190
		
ACC 191	ACC 193	ACC 194
		
ACC 195	ACC 199	ACC 200

		
ACC 201	ACC 202	ACC 203
		
ACC 204	ACC 205	ACC 207
		
ACC 208	ACC 210	ACC 212
		
ACC 213	ACC 221	ACC 225

		
ACC 227	ACC 228	ACC 229
		
ACC 230	ACC 231	ACC 233
		
ACC 235	ACC 237	ACC 238
		
ACC 244	ACC 249	ACC 279

		
ACC 60	ACC 62	ACC 65
		
ACC 106	ACC 122	ACC 134
		
ACC 139	ACC 143	ACC 184
		
ACC 185	ACC 214	ACC 224



ACC 234



ACC 29



ACC 74

Anexo 18. Matriz de Consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Determinación de ploidía por contaje de cromosomas y cloroplastos en cultivares de papa nativa (<i>Solanum spp</i>). INIA Ayacucho 2018.	¿Cuál será la ploidía en los cultivares de papa nativa (<i>Solanum spp</i>). INIA Ayacucho 2018?	<p>General. Determinar la ploidía por contaje de cromosomas y cloroplastos en cultivares de papa nativa (<i>Solanum spp</i>). INIA Ayacucho 2018.</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el número cromosómico en cultivares de papa nativa. • Determinar el número de cloroplastos en cultivares de papa nativa. 	<p>Antecedentes. Clasificación taxonómica. Importancia de la papa. Origen y distribución. Evolución de la papa cultivada. Diversidad y variabilidad genética. Variedades mejoradas andinas. Generalidades sobre estudios citológicos. Definición de cromosomas. Composición química y estructura de los cromosomas. Constantes cromosómicas. Efecto de la poliploidía en el fenotipo. Recuento de cromosomas mitóticos. Estomas. Relación de ploidía y características de los estomas. Relación ploidía cloroplastos</p>	Se encontrará diversos niveles de ploidía.	<p>Variable Principal. Colección de cultivares de papa nativa</p> <p>Variables Secundarias Número de cromosomas. Número de cloroplastos</p>	<p>Población. Colección de cultivares de papas nativas del INIA, Ayacucho 2018.</p> <p>Muestra: 150 accesiones de la colección de cultivares de papas nativas.</p> <p>Método: a) conteo de cromosomas Enraizamiento. Pretratamiento. Hidrólisis. Tinción. Squash. b) Conteo del número de cloroplastos Análisis estadístico. Se elaborará gráficos de frecuencias de las ploidías que puedan presentar las accesiones de papa.</p>