

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA PROFESIONAL DE GENÉTICA Y
BIOTECNOLOGÍA**

**Caracterización citogenética de tres ecotipos de
Physalis peruviana “Aguaymanto” provenientes del
departamento de Cajamarca: Diversidad y evolución**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Genetista
Biotecnóloga

AUTOR

Yajahaira Nevenka CARBAJAL GONZALES

ASESOR

María Angélica SILES VALLEJOS

Lima - Perú

2018

DEDICATORIA

*A mi madre, Liliana y
a mis abuelos Lourdes y Manuel; por
ser siempre mi aliento en este largo y
maravilloso camino: la vida.*

AGRADECIMIENTOS

Gracias, es una palabra tan corta, pero con un gran significado. Y más aún cuando las personas a las que se la dedicas han dejado una importante huella en tu vida.

Gracias a mi familia: Salir del cálido hogar y migrar a otra ciudad para iniciar nuevos caminos no es sencillo...

A mi madre, Liliana Gonzales -la impulsora de todos mis sueños- por ser mi ejemplo de perseverancia, por sostenerme y alentarme en cada paso y por regalarme lo más maravilloso de este mundo: su amor.

A mis abuelos Lourdes y Manuel, quienes siempre tuvieron esas palabras que me llenaron de afecto y de valor para seguir adelante. A mi tía Adela y a mis primos Daniel y Kristhian, porque a pesar de la distancia me recordaban cada día que estaban ahí tan cerca como era posible.

Gracias a mi gran familia del Laboratorio 207: Entrar a un laboratorio e iniciar tu carrera como el gran científico que sueñas ser, es algo imborrable por todas las experiencias que vivimos...desde aprender a tarar una balanza o cómo medir el pH hasta esto: terminar la tesis de pre-grado.

Al Blgo. Alberto López, por haberme dado la confianza plena para dar mis primeros pasos en este grato camino de “hacer ciencia” y por haberme enseñado más que genética general y más que recursos genéticos...gracias por mostrarme que la iniciativa y la perseverancia son cursos que no llevas en la carrera, sino que lo aprendes en el camino.

A la Blga. Mari Siles, por mostrarme el “estado del arte de la citogenética”. Todo empezó con unas lentejitas creciendo en una placa Petri...ahí también creció nuestra amistad. Gracias por instruirme con las “conversaciones cromosómicas”, por las risas, por las anécdotas de cada clase, por los consejos y los jalones de oreja...pero sobre todo por ayudarme a descubrir las dos cosas que más me gustan de la carrera: la citogenética y la docencia.

A Diego, José e Yvy; quienes me compartían sus aciertos y también los desaciertos, en especial a Yvi con quien compartimos este cariño por la citogenética. A Shary, por tu

compañía aquellas largas tardes de preparaciones cromosómicas con la firme intención de obtener “la placa”.

A Henry, por todos los días compartidos en el laboratorio, llenos de “momentos filosóficos”, de debates, de risas, de coraje cuando no salían nuestros resultados y de nuevo de risas, porque así avanzábamos mejor: con buen ánimo. Gracias siempre.

A Santiago, Marlon, Paul, Ingrid, Edith, Susan y Alex... “mis pollitos”. Por su interés, curiosidad y compromiso para cumplir con las tareas encomendadas y ¿por qué no? Por todos esos momentos de risas en medio del aprendizaje.

Gracias a mis amigos...

A Melanie, aún recuerdo el primer día que nos conocimos en “la pre”; soñando con ser grandes científicas...ahora estamos en el camino, y aunque hemos elegido “caminos científicos” distintos, siempre has estado ahí, mi completo apoyo.

A mis queridos *Muppets*: Renzo, Eva, Dalia y Henry por ser esa recarga de batería que necesité en los buenos y malos momentos.

A Verónica e Izamar. Gracias por compartir la desesperación y la emoción que nos ha regalado el “ser tesistas”.

Gracias a aquellas personas que encontré en el camino...

A la prof. Mery Suni por todas las conversaciones, consejos y apoyo, porque fue justamente en su curso “Fisiología Vegetal” donde nació mi interés por las plantas.

A Brenda Zea, por mostrarme que siempre hay soluciones ante cualquier dificultad. A la Sra. Genoveva Rossel por comprenderme y otorgarme las facilidades para terminar esta etapa como tesista.

Finalmente, gracias a mi universidad

Al Vicerrectorado de Investigación (VRI) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la Facultad de Cs. Biológicas por el apoyo a través del Fondo de Promoción de Trabajo de Tesis (Cód. 161001047) y al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (VRIP) por la subvención del Proyecto de Investigación con financiamiento 2017 (Cód. B17100151).

RESUMEN

Physalis peruviana “aguaymanto” es una planta que crece naturalmente en valles interandinos del Perú y cuyo cultivo en diferentes zonas del país ha generado lo que se conoce ahora como ecotipos.

Por ello, el presente trabajo busca determinar el número cromosómico de tres ecotipos cultivados de *P. peruviana*: San Pablo, Celendín y Cajabamba procedentes de las localidades del mismo nombre. Empleando la técnica de squash se obtuvo 30 placas metafásicas por ecotipo, encontrándose que para todos los ecotipos se reporta células con $2n = 4x = 48$; sin embargo, el porcentaje de células que presentan este número cromosómico no equivale al 100 % de las células contabilizadas: San Pablo (60%), Celendín (50%) y Cajabamba (27%). El porcentaje restante de células presenta aneuploidía somática, con las siguientes variaciones: San Pablo ($2n=44,46,50,52$ y 82); Celendín ($2n=24,46,50,52$ y 80); Cajabamba ($2n=26,44,46,50,52,54$ y 62).

A partir de 5 placas metafásicas por ecotipo se obtuvo la fórmula cromosómica: San Pablo ($17m+4sm+3t$); Celendín ($24m$) y Cajabamba ($20m+2sm+2t$). Los valores cuantitativos muestran que 16 de los 24 pares de homólogos conservan su morfología sin importar el lugar de procedencia. Los parámetros utilizados para la descripción de cariotipo incluyeron longitud total del complemento haploide (HCL), simetría (%S), asimetría (A) y valores de asimetría intra e intercromosómica (A_1 y A_2). Con respecto a esto, se encontró que el ecotipo San Pablo posee el mayor valor de HCL, Celendín presenta un alto grado de simetría ($S\%= 53.226$ y $A= 0.177$) y finalmente, San Pablo y Cajabamba se caracterizan por presentar cariotipos asimétricos con valores de asimetría intra e intercromosómica (A_1 y A_2) mayores que Celendín.

La información obtenida nos permite señalar que los tres ecotipos presentan un número $2n = 4x = 48$ cromosomas, asumiéndose tetraploidia en base al número de cromosomas encontrados. Los resultados obtenidos, coinciden con lo citado por otros autores, quienes señalan que *P. peruviana* está en proceso de evolución debido a que es – hoy en día – un cultivo que ha pasado de ser una planta silvestre a ser una planta cultivada en muy corto tiempo; por lo cual las variables cuantitativas, tanto cromosómicas como cariotípicas demuestran ser útiles para la identificación de los ecotipos en estudio.

Palabras clave: *Physalis peruviana*, aguaymanto, número cromosómico, aneuploidía somática, asimetría cariotípica.

ABSTRACT

Physalis peruviana, aguaymanto is a plant that grows naturally in the interandean valleys of Peru, whose cultivation in different areas of the country has generated what are now known as ecotypes.

Therefore, this work seeks to determine the chromosome number of three cultivated ecotypes of *P. peruviana*: San Pablo, Celendín and Cajabamba from localities of the same name. Using the squash technique, 30 metaphase plates were obtained by ecotype, finding that for all the ecotypes, cells with $2n = 4x = 48$ can be reported, however, the percentage of cells with this chromosome number does not equal 100% of the counted cells: San Pablo (60%), Celendín (50%) and Cajabamba (27%). The remaining percentage of cells evidence somatic aneuploidy, with the following variations: San Pablo ($2n = 44, 46, 50, 52$ and 82); Celendín ($2n = 24, 46, 50, 52$ and 80); Cajabamba ($2n = 26, 44, 46, 50, 52, 54$ and 62).

The chromosome formula was obtained from 5 metaphasic plates by ecotype: San Pablo ($17m + 4sm + 3t$); Celendín ($24m$) and Cajabamba ($20m + 2sm + 2t$). The quantitative values show that 16 of the 24 pairs of homologs retain their morphology regardless of the place of origin. The parameters used for karyotype description included total length of the haploid complement (HCL), symmetry (% S), asymmetry (A) and values of intra and interchromosomal asymmetry (A_1 and A_2). With respect to this, it was found that the San Pablo ecotype had the highest HCL value, Celendín had a high degree of symmetry ($S\% = 53.226$ and $A = 0.177$) and finally, San Pablo and Cajabamba are characterized by asymmetric karyotypes with intra and interchromosomal asymmetry values (A_1 and A_2) greater than Celendin.

The information obtained allows us to point out that the three ecotypes have a number $2n = 4x = 48$ chromosomes, with tetraploidy being assumed based on the number of chromosomes found. The results obtained, agree with what was cited before by other authors, who point out that *P. peruviana* is in the process of evolution because it is - nowadays - a crop that has gone from being a wild plant to being a cultivated plant in a very short time; therefore, quantitative variables, both chromosomal and karyotypic, prove to be useful for the identification of the ecotypes under study.

Key words: *Physalis peruviana*, aguaymanto, chromosome number, somatic aneuploidy, karyotype asymmetry.

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Posición taxonómica de <i>Physalis peruviana</i>	6
2.2. Aspectos botánicos.....	6
2.3. Aspectos reproductivos.....	8
2.4. Distribución geográfica	11
2.4.1. Centro de origen y domesticación	11
2.4.2. Distribución actual.....	12
2.5. Utilidad	13
2.6. Situación económica.....	14
2.7. Variedad versus ecotipo	16
2.8. Aguaymanto como parte de la agrobiodiversidad del Perú	19
2.9. Enfoque citogenético.....	20
2.9.1. El ciclo y la división celular.....	20
2.9.2. Formación de los cromosomas	21
2.9.3. Estructura externa del cromosoma metafásico.....	23
2.9.4. Análisis de cariotipo y descriptores citogenéticos.....	24
2.9.5. Alteraciones numéricas.....	30
2.9.2. Antecedentes sobre la citogenética de <i>P. peruviana</i>	32
3. HIPÓTESIS.....	34
4. OBJETIVOS.....	34
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
5.1. Área de colecta.....	35
5.2. Colecta de material biológico	40
5.3. Obtención de semillas.....	40
5.4. Proceso de germinación	40
5.5. Determinación de la hora mitótica.....	41
5.6. Preparación citogenética	42
5.7. Análisis de placas metafásicas	45
6. RESULTADOS	48

6.1. Proceso de germinación	48
6.2. Determinación de la hora mitótica.....	52
6.3. Preparación citogenética	54
6.4. Número cromosómico.....	55
6.5. Morfología cromosómica	60
7. DISCUSIÓN	72
7.1. Proceso de germinación	72
7.2. Determinación de la hora mitótica.....	75
7.3. Preparación citogenética	76
7.4. Número cromosómico.....	78
7.5. Morfología cromosómica	85
8. CONCLUSIONES	93
9. RECOMENDACIONES	94
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
11. ANEXOS.....	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura de los cromosomas según los índices establecidos por Levan, Fredga, & Sandberg (1964).	26
Tabla 2. Definiciones de alteraciones numéricas comunes en plantas.	30
Tabla 3. Datos geográficos <i>in situ</i> de las zonas de colecta por ecotipo	35
Tabla 4. Proceso de estandarización del protocolo citogenético para <i>Physalis peruviana</i>	43
Tabla 5. Tabla de comparación utilizando la Prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del $\alpha=0.05$ para la variable Potencia de Germinación (PG%) por ecotipo.	50
Tabla 6. Tabla de comparación utilizando la Prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del $\alpha=0.05$, para la variable Velocidad de germinación por ecotipo	51
Tabla 7. Protocolo citogenético estandarizado de <i>P. peruviana</i> .	54
Tabla 8. Data correspondiente al valor de <i>arm ratio</i> (AR) o índice braquial y morfología cromosómica según Levan (1964) para los tres ecotipos de <i>P. peruviana</i> .	61
Tabla 9. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo San Pablo, obtenidos a partir del software Ideokar.	63-64
Tabla 10. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo Celendín, obtenidos a partir del software Ideokar.	66-67
Tabla 11. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo Cajabamba, obtenidos a partir del software Ideokar.	69-70
Tabla 12. Variables morfológicas que describen el cariotipo por cada zona de colecta*.	72
Tabla 13. Datos reportados que relacionan los días de maduración con el porcentaje de germinación en <i>P. peruviana</i> , tomado de Peña et al. (2011).	73
Tabla 14. Referencia bibliográfica de caracterización citogenética de tres trabajos realizados en Colombia en los últimos 10 años.	79
Tabla 15. Resultados obtenidos en un estudio de diversidad citogenética de aguaymanto colombiano por Rodríguez & Bueno (2006).	86
Tabla 16. Descripción de los siete genotipos trabajados por Liberato et al. (2014) procedentes de Colombia, Sur África, Polonia e India.	87

ANEXO 1. Materiales.	106
ANEXO 2. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo San Pablo.	107
ANEXO 3. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo Celendín.	117
ANEXO 4. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo Cajabamba.	127
ANEXO 5. Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en San Pablo.	137
ANEXO 6. Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en Celendín.	138
ANEXO 7. Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en Cajabamba.	139
ANEXO 8. Constancia de identificación botánica de las muestras de <i>Nicandra physalodes</i> colectadas en Cajabamba.	140

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración botánica de <i>P. peruviana</i> .	8
Figura 2. Evento de polinización.	10
Figura 3. Esquema de clasificación de las plantas en autógamias y alógamas en base al porcentaje de fecundación cruzada.	10
Figura 4. Ubicación de las principales zonas productoras de aguaymanto en Perú.	13
Figura 5. Evolución de las exportaciones de aguaymanto en el periodo 2012 – 2016, según sus principales mercados.	15
Figura 6. Evolución de las exportaciones de aguaymanto según sus principales presentaciones durante el año 2016.	16
Figura 7. Ciclo celular.	21
Figura 8. Asociación somática en plantas.	23
Figura 9. Cromosomas representando el rango de variación de la posición del centrómero.	26
Figura 10. Características estructurales del cromosoma mitótico de plantas.	29
Figura 11. Consecuencias de la aneuploidía.	32
Figura 12. Colecta en San Pablo.	36
Figura 13. Colecta en Celendín.	37
Figura 14. Colecta en Cajabamba.	38
Figura 15. Zonas de colecta.	39
Figura 16. Proceso de extracción y germinación de semillas.	47
Figura 17. Diagrama de cajas de la potencia germinativa (PG%) de los tres ecotipos.	49
Figura 18. Gráficos de caja generado para la variable Velocidad de Germinación.	50
Figura 19. Porcentaje de germinación acumulado para los tres ecotipos.	52
Figura 20. Fases de la mitosis en <i>P. peruviana</i> .	53

Figura 21. Evidencia de las ventajas y desventajas del protocolo estandarizado.	55
Figura 22. Frecuencia de números cromosómicos (2n) hallados en el ecotipo San Pablo.	56
Figura 23. Algunos casos de aneuploidía somática reportada en el ecotipo San Pablo.	56
Figura 24. Frecuencia de números cromosómicos (2n) hallados para el ecotipo Celendín.	57
Figura 25. Algunos casos de aneuploidía somática reportados en el ecotipo Celendín.	57
Figura 26. Frecuencia de números cromosómicos (2n) para el ecotipo Cajabamba.	58
Figura 27. Algunos casos de aneuploidía somática reportada en el ecotipo Cajabamba.	59
Figura 28. Histograma de frecuencia de los números cromosómicos para los tres ecotipos.	60
Figura 29. Ecotipo San Pablo, cariotipo e idiograma.	62
Figura 30. Ecotipo Celendín, cariotipo e idiograma.	65
Figura 31. Ecotipo Cajabamba, cariotipo e idiograma.	68
Figura 32. Propuesta del proceso evolutivo de las Solanáceas.	81

1. INTRODUCCIÓN

Physalis peruviana, también conocida como aguaymanto, es una planta nativa de la región andina perteneciente a la familia Solanaceae (Puente et al. 2011). Aunque la distribución natural de esta planta se extiende a lo largo de los Andes Sudamericanos, la especie fue introducida en Sudáfrica por los españoles que llegaron allí (Mazorra et al. 2006) y desde ahí, fue transferida a diferentes países del trópico y sub-trópico, donde hoy en día se cultiva comercialmente.

P. peruviana ha sido agrupada en ecotipos o plantas que provienen de distintas regiones o países; los cuales son clasificados en base a color, forma y sabor del fruto, forma de la flor, hábito y altura de la planta, entre otros. Los ecotipos más comerciales hoy en día son los procedentes de Colombia, Sudáfrica y Kenia (tomando el nombre del país de procedencia) (Fischer et al. 2005)

Actualmente, el abastecimiento internacional de aguaymanto viene siendo liderado por Colombia, país que con poco más de 20 años de experiencia en el manejo del cultivo, se posiciona como líder en el mercado internacional tanto con frutos frescos como deshidratados (Schreiber 2012). Un ejemplo de ello es que debido a la potencialidad económica que representa para ellos este fruto, se han realizado estudios sobre diversidad genética, biología molecular, fisiología, agronomía y demás cuidados pre y post-cosecha en base a los 3 ecotipos comerciales que ahí se cultivan: Kenia, Sudáfrica y Colombia (Fischer et al. 2005).

La gran aceptación del aguaymanto se debe a que posee un alto contenido de antioxidantes (como las vitaminas A, B y C), minerales y fitoesteroles, lo cual le da significativas propiedades nutritivas y nutraceuticas (Puente et. al. 2011; Dostert et

al. 2012). La comercialización del aguaymanto se realiza de dos formas diferentes en el mercado internacional: como fruto fresco y como producto con valor agregado (e.g. aguaymanto deshidratado, mermeladas, yogurt, etc.).

En nuestro país, se ha reportado la presencia de plantas de aguaymanto silvestres preferentemente en zonas de meseta fría; pero debido a que desde hace 6 años aproximadamente ha adquirido importancia comercial, ahora podemos encontrar plantas cultivadas en regiones como Cajamarca, Cusco, Ayacucho, Junín, Ancash, Arequipa, entre otros (Dostert et al. 2012). Sin embargo, existen dos problemas importantes que afectan la producción y comercialización de esta baya andina. El primero de ellos, hace referencia al desconocimiento de la variabilidad genética de la especie *P. peruviana* por parte de los agricultores y las empresas, lo cual se hace evidente durante el proceso de producción de aguaymanto deshidratado, observándose que la calidad del producto final no mantiene un estándar en cuanto a color, tamaño y sabor debido a que los frutos “en fresco” colectados proceden de diferentes huertos familiares (R. Schedlbauer, comunicación personal, 14 de abril del 2014). El segundo problema, afecta la comercialización del fruto “en fresco”, según informes de Sierra Exportadora (2014), se sabe que la cantidad de producción por hectárea no cubre la demanda que se genera a nivel internacional. Actualmente las plantaciones de aguaymanto en su mejor temporada producen cerca de 8 a 9 toneladas por hectárea, mientras que, en Colombia, la producción por hectárea alcanza las 12 toneladas (C.O. R. Schedlbauer – AgroAndino SRL, 2013). Además de ello, la estética de la presentación final del producto se ve afectada por la falta de homogeneidad de los frutos y cálices, generando baja aceptación en los compradores del mercado internacional. Esto también se refleja en los mercados y supermercados locales, en los cuales aún se ofrece el producto

“en fresco” sin un estándar definido. De esta manera, la situación actual del proceso productivo del aguaymanto en nuestro país difiere con lo que se viene desarrollando en Colombia, por ejemplo. A pesar de esto, actualmente, la mayor parte de nuestra producción se destina al mercado internacional, siendo nuestros principales consumidores Estados Unidos (31,61%), Alemania (20,25%), Holanda (15%), Brasil (6,58%) y Canadá (4,81%) (PROMPERU 2017).

Respecto a la forma de exportación de aguaymanto, el 21,51% es deshidratado, mientras que la presentación de fruto fresco es representada por 4,09% orgánico y 1,80% natural, siendo la presentación como deshidratado la que ha tenido un mayor crecimiento entre los años 2007 y 2011 (Schreiber 2012). Este hecho ha impulsado una nueva alternativa para la sostenibilidad económica de las familias de zonas rurales, quienes iniciaron la transformación agronómica del aguaymanto en base al conocimiento tradicional y hoy en día realizan trabajos conjuntos con empresas del rubro, con mayor capital y conocimiento técnico.

Los agricultores del departamento de Cajamarca son un ejemplo de ello. En un informe elaborado en el año 2011 por la Cooperación Alemana al Desarrollo (GIZ 2011) se ha reportado que, tomando como fuente los datos obtenidos por el INEI en el año 2009, la región de Cajamarca registró una tasa de pobreza del 56,0%, superando al promedio nacional 34,8%; esto debido a que, en Cajamarca, a pesar de la urbanización y desarrollo comercial que se vive a causa de la minería, aún gran parte de la población continúa viviendo en las zonas rurales, aptas para cultivo. Esto se comprueba a su vez con los resultados obtenidos en el IV Censo Nacional Agropecuario (INEI 2012), en el cual se informa que el mayor número de productores agropecuarios se encuentran en Cajamarca. A este panorama social se suma el hecho de que Cajamarca, ubicada en el norte del Perú, presenta una

topografía muy variada debido a la presencia de la Cordillera de los Andes, la cual atraviesa este departamento generando diferentes zonas ecológicas con un variado sistema de climas, propiciando la existencia de numerosos ecosistemas, así como de diversas especies que se adaptan a estas condiciones (Sánchez et. al. 2010).

Según Araujo (2009), se han reportado diversos ecotipos en Cajamarca que se diferencian por tamaño, color y sabor del fruto, así como en la forma del cáliz y forma de la planta. Algunos de estos parámetros tienen características intermedias; por ejemplo, el hábito de crecimiento (rastrero, semi rastrero y erecto), el color del fruto (verde, amarillo, naranja), entre otros. Entre los ecotipos más explotados comercialmente por sus características organolépticas se encuentran el ecotipo San Pablo (desarrollado en San Pablo y cultivado por la empresa AgroAndino SRL), el ecotipo Celendín (cultivado por AZ ingenieros) y el ecotipo Cajabamba (reportado por GIZ en el 2011 y cultivado en Cajabamba y otros distritos de Cajamarca).

Esta situación ha sido tomada en cuenta por diversas ONG's y empresas nacionales e internacionales, quienes buscan consolidar la cadena productiva del aguaymanto, brindándoles capacitaciones y asesorías así como la articulación comercial; sin embargo, este proceso productivo que va en aumento, carece de una base científica que detalle las variaciones de los ecotipos locales a nivel genético y poder así determinar, registrar y seleccionar los mejores materiales para iniciar programas de mejoramiento.

Si bien es cierto, en nuestro país la identificación de los ecotipos de aguaymanto hasta el momento reportados, se basa en caracteres morfológicos y fisiológicos, como se observa en los trabajos realizados por dos tesis Cajamarquinos:

“Influencia del abonamiento orgánico y químico en tres ecotipos de tomatillo (*Physalis peruviana* L.) en las localidades de San Juan y Asunción – Cajamarca” (Moncada 2004) y “Evaluación agronómica de seis ecotipos de tomatillo (*Physalis peruviana*) para su adaptación en tres pisos ecológicos de la cuenca alta del Llaucano” (Sánchez 2006); sin embargo, muchos de estos caracteres pueden ser influenciados por la genética y el ambiente, por lo que se hace necesario determinar la contribución del material genético sobre el fenotipo.

En ese sentido, las investigaciones citológicas, como es el caso de los estudios sobre variación cromosómica, no sólo nos dan a conocer características propias de un organismo como ciclo celular, número y morfología cromosómica; sino que a su vez proporcionan información significativa que complementa estudios evolutivos, de distribución geográfica, modos reproductivos, parámetros de fertilidad y hasta la obtención de híbridos para describir más integralmente los sistemas genéticos (Ferrer-Pereira, Alcorcés-De-Guerra, and Méndez-Natera 2007). De esta manera, se pueden construir stocks que agrupen a los ecotipos según su base genética, lo cual es un requisito indispensable para la caracterización a nivel molecular con miras a la generación de híbridos por cruces y/o mejoramiento genético.

Así, la cadena productiva del aguaymanto precisa de un enfoque científico que ayude a contrarrestar la falta de homogeneidad en el producto final que llega al mercado, ya sea fresco o deshidratado; impulsando el desarrollo de diversas líneas de investigación para poder determinar con mayor precisión si las diferencias entre los ecotipos presentan un soporte genético que les permita ser más estables en el tiempo o de lo contrario podrían deberse a las distintas condiciones climáticas de las regiones productoras.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Posición taxonómica

Se muestra la clasificación taxonómica del aguaymanto acorde con “Plant Database” generada por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA 2012) la cual está acorde con el sistema de clasificación de Cronquist & Anderson (1982).

Reino	<i>Plantae</i>
Sub reino	<i>Tracheobionta</i>
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Physalis</i>
Especie	<i>Physalis peruviana</i> L.

Nombres comunes: aguaymanto, capulí en Perú, uchuva en Colombia, uvilla en Ecuador, cape gooseberry y golden berry en Estados Unidos y demás países de habla inglesa (Puente et. al. 2010).

2.2 Aspectos botánicos

La familia Solanaceae está conformada mayormente por herbáceas y en menor parte por árboles y arbustos (Madriñan Palomino 2010). Dentro de este grupo mayoritario de las Solanáceas se encuentra *Physalis peruviana*, la cual puede ser

perenne en los trópicos y anual en climas templados; llegando a medir de uno a dos metros de altura (Dostert et. al. 2011).

Presenta tallos erectos, difusamente ramificados y densamente pubescentes. Hojas de forma aovada y pubescentes, además de ser alternas o raramente emparejadas, con bordes enteros o ligeramente dentados (Figura1). La unión entre tallo y hojas se da por peciolo que oscilan entre los 2 a 6 cm de longitud, mientras que las flores se sostienen por un pedúnculo floral de 10 a 13 mm de largo. Flores individuales y de posición axilar, presentan un cáliz 5-lobado pubescente, el cual es la principal característica del género *Physalis* por facilitar su identificación. Esta estructura se desarrolla durante la fructificación, cuyo crecimiento culmina al cubrir la baya completamente, colgando como una lámpara (Fisher 2005). Corola amarilla campanulada de dimensiones entre 1 a 1,8 cm de largo y 1,2 a 2 cm de ancho; el cuello de la corola presenta cinco máculas purpúreas ornamentadas con tricomas. Presenta cinco estambres con anteras purpúreas o azuladas. Gineceo conformado por un ovario lampiño y verde, unido a un estilo púrpura con estigma claviforme.

El fruto es una baya succulenta que presenta una coloración amarilla anaranjada al alcanzar la maduración, de 1 – 1,5 cm diámetro. En su interior presentan un aproximado de 100 a 300 semillas reniformes y amarillas de 1,5 – 2 mm de diámetro, las cuales no presentan hilos placentarios (Dostert et al. 2012).



Figura 1. Ilustración botánica de *P. peruviana*, tomado de Curtis's Botanical Magazine (1808) como *P. edulis*.

2.3 Aspectos reproductivos

El conocimiento acerca de la biología floral y el comportamiento reproductivo de una especie, es un punto importante en estudios de evolución, conservación y mejoramiento genético (Lagos et al. 2005). Naturalmente, las plantas pueden reproducirse de forma sexual o asexual. La reproducción sexual es un proceso que se inicia con la polinización, seguido de la fertilización del óvulo por el polen, lo cual –si fuese exitoso- produce las semillas. En este punto es preciso aclarar que, como sostiene Acquaah (2007), el hecho de que una flor sea exitosamente polinizada no asegura que ocurra la fertilización.

Para nuestro interés, las plantas hermafroditas, como el aguaymanto, según la procedencia del polen, se clasifican en dos importantes grupos: las alógamas

(polen proviene de una flor distinta) y las autógamias (polen proviene de la misma flor); siendo la principal diferencia entre ambos el incremento de la variabilidad genética (Acquaah 2007).

Los primeros indicios sobre el sistema reproductivo de *P. peruviana* lo dieron Santana & Angarita (1997) quienes proponían al aguaymanto como una planta alógama, razón por la cual exhibe una amplia variabilidad fenotípica. Años más tarde Fischer et. al. (2005) propone la polinización cruzada (además de otros factores como la diversidad ecológica del hábitat, la selección natural y la domesticación) como causante de la diversidad genética de las poblaciones de aguaymanto desde silvestres hasta cultivadas; sin embargo, Legge (1974) y Puente et al. (2011) reportan la predominancia de la autogamia en la especie, pudiendo darse algunos casos de polinización cruzada.

Finalmente, el consenso se da con el trabajo de (Lagos et al. 2005) quien realizó ensayos en condiciones de invernadero utilizando cinco genotipos de “uchuva” en la Universidad de Nariño, Colombia. Los resultados del trabajo evidenciaron un 53,69% de polinización cruzada natural (Fig, 2), y a su vez un alto número de frutos producidos por autopolinización; lo que posiciona al aguaymanto como una especie de polinización mixta.



Figura 2. Evento de polinización. Flor de aguaymanto siendo visitada por una abeja en los campos de cultivo de Cajabamba. Foto: Y. Carbajal (2015).

Una de las principales desventajas de trabajar en invernadero, es la no exposición de las flores a la presencia de los principales agentes polinizadores como son insectos, viento y agua; sin embargo, Lopes de Souza (2013) sostiene, que se considera como especies alógamas aquellas que presenten un valor mayor al 95% de fecundación cruzada y, por otro lado, serán consideradas especies autógamias, las que presenten un valor menos al 5% de fecundación cruzada. Los valores intermedios de fecundación cruzada, para fines de mejoramiento, son considerados como especies alógamas (Figura 3).

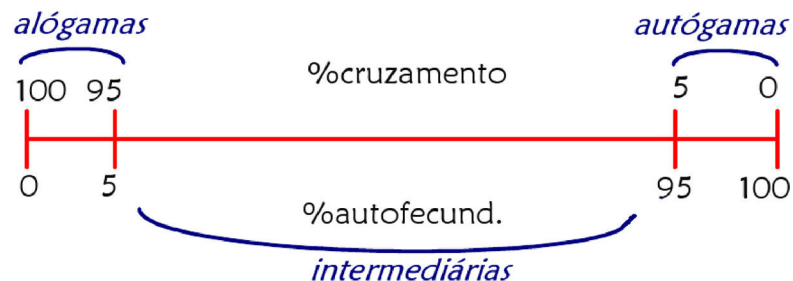


Figura 3. Esquema de clasificación de las plantas en autógamias y alógamas en base al porcentaje de fecundación cruzada. (López de Souza, 2013)

Según los reportes mencionados anteriormente, al tener *P. peruviana* un sistema de apareamiento mixto, estamos frente a una planta autógama facultativa. Esto implica que existe autofertilización luego de autopolinización, descartando de esta manera la presencia de algún sistema de autoincompatibilidad.

Con respecto a este punto, un reporte realizado por el grupo de trabajo en Solanaceae (Daunay et al. 2006) sostiene que, a nivel del género *Physalis*, las especies cultivadas son principalmente auto-compatible (a excepción de *P. ixocarpa*) sin descartarse la ocurrencia de polinización cruzada por parte de agentes polinizadores; mientras que muchas de las especies silvestres se caracterizan por ser auto-incompatibles, por tanto se consideran alógamas.

Tanto Daunay et al. (2006) como Mulato-Brito et al. (2007) y Peña & Márquez (1990) coinciden en señalar que *P. ixocarpa* – cuyo centro de origen es México- es considerada una especie alógama obligada debido a la autoincompatibilidad gametofítica que presenta; lo cual dificulta el éxito de las técnicas de mejoramiento tradicional.

2.4 Distribución geográfica

El género *Physalis* es uno de los géneros más numerosos de la familia Solanaceae y comprende cerca de 75 a 90 especies. La mayor diversidad de especies se distribuyen en el Nuevo Mundo, con una excepción, *P. alkekengi* L., la cual se distribuye entre Europa y Asia (Ward et al. 2010).

2.4.1 Centro de Origen y domesticación

El aguaymanto es una fruta nativa de los países andinos como Perú, Colombia, Ecuador y Bolivia (Fisher et. al. 2005). Según Legge (1974), el centro de origen de

este fruto fue los andes peruanos; sin embargo, otros autores como Britto (2002) incluye los andes ecuatorianos. El hecho de que la zona de origen del aguaymanto se encuentre en la zona andina, permite inferir que, posiblemente, su distribución se dio en tiempos precolombinos tal como lo sostiene Sholto (1967) quien además manifiesta que fue un cultivo muy utilizado en el periodo Inca.

Actualmente, pese a la amplia distribución de la planta en estas zonas, no se cuenta con un reporte etnobotánico que nos relate el proceso de domesticación que sufrió *Physalis peruviana* hasta nuestros tiempos; sin embargo, algunos autores como Tomás y Sepúlveda (2015) hacen referencia de que esta fruta era muy utilizada entre los colonos y que gracias al desplazamiento constante de españoles y portugueses, en aquellos tiempos, se introdujo el cultivo a varias partes del mundo.

2.4.2 Distribución actual

En el territorio peruano se tiene reporte de ocho departamentos donde se cultiva esta baya como son: Ancash, Huánuco, Junín, Ayacucho, Arequipa, Cajamarca y Cuzco y Lima. (Dostert et al. 2011) (Figura 4). Según Sierra Exportadora (2017), de los departamentos mencionados, Cajamarca se ha posicionado como la principal región productora del país. De esta manera, el potencial del fruto es determinado en gran medida por su variabilidad, lo cual se debe a que los valles interandinos ofrecen diversos nichos ecológicos apropiados para este cultivo.

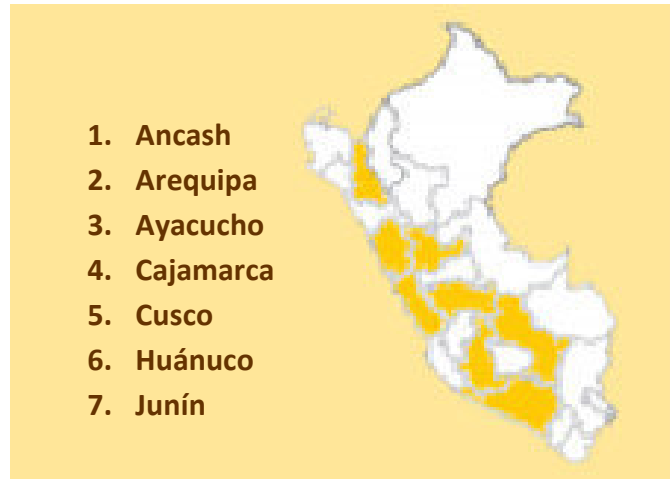


Figura 4. Ubicación de las principales zonas productoras de aguaymanto en Perú.
Fuente: Sierra Exportadora (2017).

Con respecto a la distribución mundial, como planta cultivada, el aguaymanto ha resultado ser rentable y atractivo por su alta demanda comercial y capacidad de adaptación, siendo los principales productores Colombia -el mayor productor-, Kenia, Zimbabwe, Australia, Nueva Zelanda, India y Ecuador (Beltran 2009, citado por Fischer et al. 2014).

A menor escala también lo producen países como: Estados Unidos, México, Belice, Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Jamaica, Venezuela, Bolivia, Perú, Chile, Brasil, Sudáfrica, Gabón, Egipto, India, China, Japón, Malasia, Indonesia, Filipinas, Samoa, Tonga, Nueva Caledonia, Islas Guam, Reino Unido e Israel (Özdemir & Günal 2012, citado por Fischer et al. 2014).

2.5 Utilidad

La familia Solanaceae, se consolida como una de las más importantes en el aspecto económico para la nutrición humana, algunas de las más conocidas son: la papa (*Solanum tuberosum*), alimento base a nivel mundial; la berenjena

(*Solanum melongena*); el ancestro del tomate domesticado (*Lycopersicon esculentum*); ajíes y pimientos del género *Capsicum* como el tomate verde (*Physalis pubescens*, *P. ixocarpa*), entre otros.

Con respecto al aguaymanto (*Physalis peruviana*), su importancia en el mercado se debe principalmente a las propiedades nutraceuticas. El estudio más resaltante es el realizado por Puente et al. (2011) en el cual, a través de un análisis fitoquímico muestra a este fruto como un alimento natural funcional por la diversidad de compuestos bioactivos que presenta. Además, Quispe-Mauricio et al. (2009) nos da a conocer los efectos citotóxicos de extractos obtenidos a partir de hojas y tallos de aguaymanto sobre líneas celulares cancerígenas colo-205 (causantes de cáncer de colon), K562 (causante de leucemia mieloide crónica) y 3T3 (fibroblastos normales de ratón).

2.6 Situación económica

En nuestro país, diferentes entidades, tanto del Estado como empresas privadas, vienen generando un camino para impulsar el desarrollo de este cultivo. Por parte del Estado, el programa Sierra Exportadora –impulsado y creado bajo la Ley N° 28890- es un organismo público descentralizado, que busca interconectar a los productores de zonas rurales con los mercados, tanto nacionales como internacionales, impulsando principalmente productos con valor agregado. Un ejemplo, es la propuesta de instalación de parcelas de berries, entre ellos aguaymanto, en la sierra de Tacna debido a que se desarrolla de forma silvestre en esta región. (Sierra Exportadora 2014). En lo que se refiere al sector privado, empresas del rubro como Agroandino S.R.L., Villa Andina S.A.C. entre otras, así como asociaciones de agricultores como APROFHZEL (Asociación de Productores

Orgánicos de Frutas y Hortalizas de Zelendín) se dedican al manejo, cultivo y procesamiento de aguaymanto.

El trabajo en conjunto de las entidades competentes ha impulsado el crecimiento comercial y la importancia económica del aguaymanto en estos últimos años. Según cifras del Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior (SIICEX), inicialmente en el año 2012, sólo se contaba con cuatro países importadores de la baya; sin embargo, hasta el 2016, este número se incrementó a nueve países, siendo los principales solicitantes Países Bajos, Estados Unidos y Alemania (Figura 5).

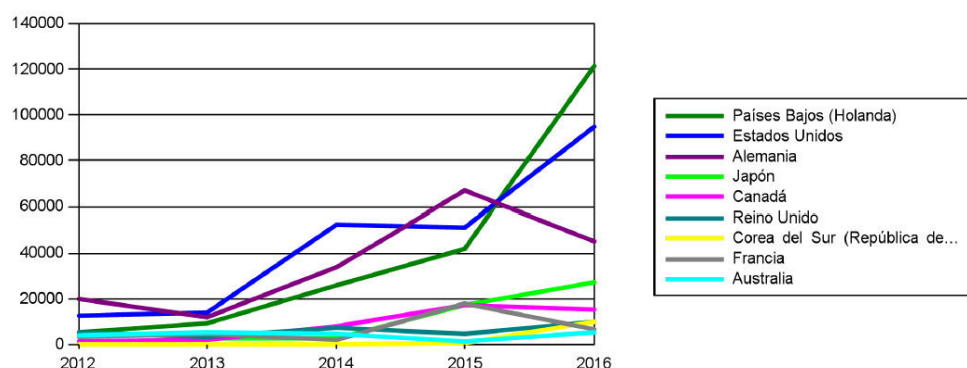


Figura 5. Evolución de las exportaciones de aguaymanto en el periodo 2012 – 2016, según sus principales mercados, siendo el principal Países Bajos (Holanda). Fuente: SIICEX (2017).

Con respecto a la presentación del producto, SIICEX realiza una estadística en el periodo 2012- 2016, mostrándose que hasta el año 2015 la exportación del fruto en fresco o natural, se mantenía en la misma posición que los productos con valor agregado; sin embargo, hacia el 2016 los frutos naturales son los que poseen mayor demanda, contrario a la presentación con valor agregado como pulpa, mermelada o conserva (Figura 6).

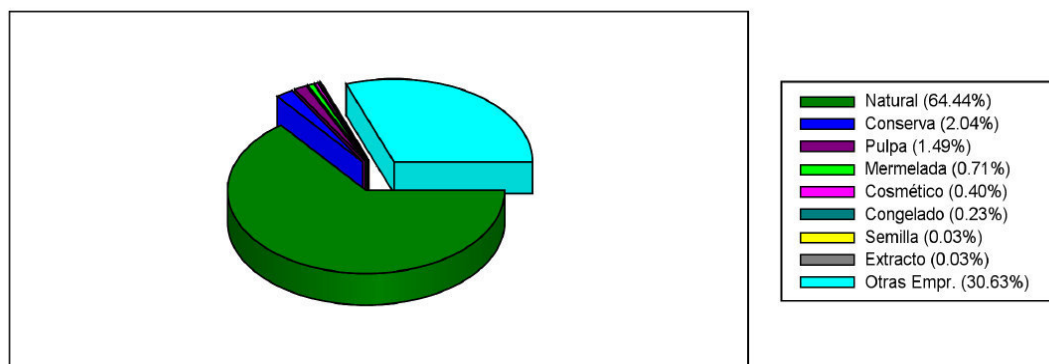


Figura 6. Evolución de las exportaciones de aguaymanto según sus principales presentaciones durante el año 2016. Fuente: SIICEX (2017).

2.7 Variedad versus ecotipo

Según la literatura revisada, el aguaymanto es categorizado principalmente por ecotipos, incluso en los principales países productores como Colombia y Sudáfrica, refiriéndose a plantas procedentes de diferentes regiones geográficas que se diferencian por aspectos como tamaño, sabor del fruto, tamaño del cáliz o hábito de la planta (erguida o rastrera) (Zschau 2009); sin embargo, debido a la gran importancia comercial del fruto, CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria) en base a un largo trabajo de 8 años ha logrado seleccionar, mejorar y registrar dos variedades de aguaymanto, las cuales están por el momento en periodo de prueba comercial. Éstas son: Corpoica Dorada – generada en laboratorio por cultivo *in vitro* de anteras (plantas dihaploides) - y Corpoica Andina – generada en campo, proviene de tres ciclos de selección masal. Ambas variedades han pasado las pruebas de evaluación agronómica, considerándose aptas para exportación (Portal Frutícola 2016).

Como se puede apreciar, es necesario reforzar la idea de variedad y ecotipo para poder comprender el nivel evolutivo que presenta *P. peruviana* actualmente. Todos estos conceptos nos ayudan a comprender la diversidad presente en el taxón botánico de más bajo rango, conocido como especie.

Según lo establecido en el Acuerdo de Cartagena en la Decisión 345 sobre el Régimen Común de Protección a los Derechos de los Obtentores de Variedades Vegetales y la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) creada en 1961, *“una variedad vegetal representa a un grupo de plantas; definido con mayor precisión, seleccionado dentro de una especie, que presentan una serie de características comunes que se pueden perpetuar por reproducción, multiplicación o propagación”*. A esto se suma que una variedad es trabajada por la mano del hombre, a través de un largo proceso de fitomejoramiento que involucra tiempo e inversión económica para poder obtener un producto deseado, novedoso, homogéneo y estable que pueda ser protegido y explotar así los beneficios económicos del mismo (INDECOPI 2010).

En contraparte a esto, un ecotipo es un producto originado por la evolución natural. Se dice que como producto de la evolución se generan patrones de variación que se dan básicamente en 2 niveles: 1) dentro de una misma especie y 2) aquellas que involucran diferentes especies de un género o un mayor número de ellos (Turesson 1931).

Para el caso que hemos estudiando, nos interesó el primer tipo de patrones de variación, el intraespecífico. Darwin (1965) sostiene que las especies de gran dispersión, las muy difundidas y las más comunes son las que más varían. De

acuerdo a eso, Turesson (1931) y Zamudio et al. (2002) enfatizan que es mucho más probable que se dé la diferenciación en ecotipos principalmente en especies extendidas que en otras locales, raras o endémicas. Esta parece ser la situación de *P. peruviana*, la cual ha sido reportada como una planta expandida en diferentes países del mundo, adecuándose a distintos hábitats.

La primera definición de ecotipo la dio Turesson (1931) como una “respuesta genotípica de una especie a un hábitat particular”. A ello se puede completar con lo sostenido por Zamudio et al. (2002) como “grupo de plantas de genotipo similar que ocupan un nicho ecológico específico”. Un enfoque más completo lo brinda González & Rojas (2014) manifestando que se conoce como ecotipo a “una subpoblación genéticamente diferenciada que está restringida a un hábitat específico, a un ambiente particular o a un ecosistema definido, con límites de tolerancia particulares, a los factores ambientales locales, donde la adaptación a un ecosistema o a un hábitat particular implica cambios genéticos que se establecen de acuerdo con los límites de tolerancia de las especies”. A su vez, sostiene que la plasticidad fenotípica en plantas es muy común, pero también las alteraciones cromosómicas, que incluyen mutaciones, variaciones de número y cambios en su estructura, los cuales son los primeros eventos que se dan camino a la diferenciación.

Tomando en cuenta los conceptos mencionados, para los fines de este trabajo, asumimos como ecotipos a grupos de plantas de una misma especie que se adaptan a un hábitat determinado en forma natural, exhibiendo diferentes patrones fenotípicos como consecuencia de una variación a nivel genético. Estos patrones surgen con el propósito de tolerar las condiciones del lugar; pudiendo o no contener caracteres deseados por el ser humano.

2.8 Aguaymanto como parte de la agrobiodiversidad del Perú

La agrobiodiversidad se refiere a la variabilidad de cultivos, animales de cría, y organismos asociados con ellos dentro de los complejos ecológicos de los que forman parte. Esto incluye la diversidad entre especies y entre ecosistemas MINAM (2012). En este marco, el aguaymanto es uno de los recursos biológicos importantes que conforman la agrobiodiversidad de nuestro país; el cual contiene genes que poseen un valor estratégico, social y económico, por lo cual deben ser tratados como “recursos” (Santilli 2009).

Es así que una serie de acciones se han generado, con respecto al aguaymanto como recurso biológico, por ejemplo: el 22 de marzo del 2005 se promulgó la Ley N°28477: “que declara a los cultivos, crianzas nativas y especies silvestres usufructuadas patrimonio natural de la nación”, dentro de las cuales está el aguaymanto; lo cual le favorece porque fomenta actividades como producción, industrialización, comercialización dentro de un enfoque de sostenibilidad y sustentabilidad (INIA 2009).

Como recurso genético, el Estado busca salvaguardar el aguaymanto entre otros cultivos importantes como tubérculos, legumbres y demás mediante el Proyecto Perú “Conservación *In Situ* de los Cultivos y sus Parientes Silvestres”, el cual tiene por objetivo preservar la agrobiodiversidad, y dentro de ella, los recursos genéticos vegetales de las especies nativas cultivadas y sus parientes silvestres (INIA 2009) involucrando de esta manera a las familias campesinas y organizaciones agrícolas quienes con su conocimiento tradicional apoyan en la utilización sostenible de los cultivos evitando así la erosión genética.

2.9 Enfoque citogenético

En líneas generales, la citogenética comprende todo estudio relacionado al cromosoma aislado o en conjunto, ya sea en su máximo estado de condensación o distendido, con todo lo que respecta a su morfología, organización, función y replicación, así como su variación y evolución. Además de ello, los estudios citogenéticos guardan estrecha relación con los mecanismos de aislamiento reproductivo y los modos de especiación en plantas, por lo cual sus aportes son de gran importancia (Poggio, Espert & Fortunato 2008).

2.9.1 El ciclo y la división celular

El ciclo celular es un proceso continuo que ocurre en cada una de las células de todos los seres vivos durante su tiempo de vida; es decir desde su proliferación, diferenciación, envejecimiento y muerte celular (Mudry & Bressa 2014). Cada una de estas etapas es vigilada por estrictos mecanismos de regulación, principalmente la de proliferación, debido a que aquí se generan nuevas células, aquí inicia el ciclo celular.

El ciclo celular está comprendido por las siguientes fases: G1 (replicación) → S (síntesis de ADN) → G2 (crecimiento) → M (mitosis o meiosis) → C (citocinesis) (Smith & Kindfield 1999 citado por Singh 2002). (Figura 7).

La fase M corresponde a la división del núcleo celular, la cual sucede en los organismos eucariotas. Existen dos tipos de división celular: 1) Mitosis, proceso que ocurre en células de tejidos somáticos y que consiste principalmente en la división del material genético generando dos células hijas con material genético idéntico tanto cuantitativa como cualitativamente; 2) Meiosis, en contraste, se da en células de la línea germinal y se describe como una reducción del material

genético de la célula madre hacia las cuatro células hijas generadas, las cuales son producidas con un número haploide de cromosomas (Dyer 1979; Singh 2002).

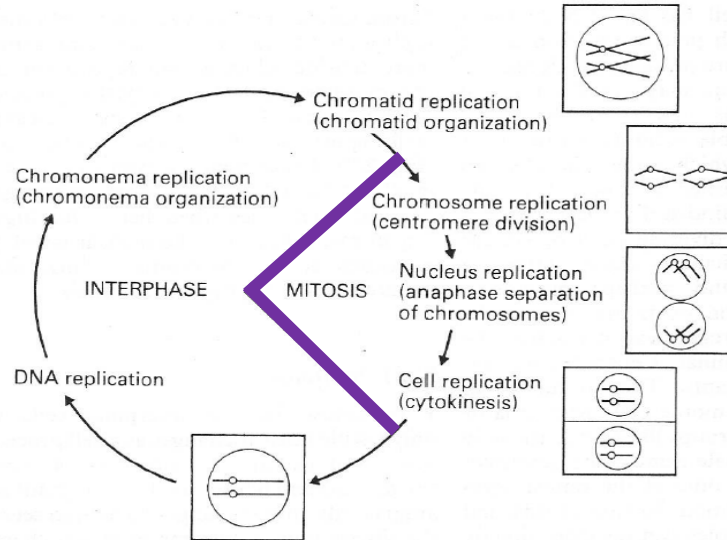


Figura 7. Ciclo celular. Serie de eventos que ocurren durante la replicación del complemento cromosómico posteriores a la división celular. Fuente: Singh (2002).

2.9.2 Formación de los cromosomas: condensación de la fibra de ADN

La condensación de la fibra de cromatina es uno de los pasos fundamentales para que llegue a realizarse la segregación de los cromosomas. Este proceso dinámico involucra cambios relativos en el comportamiento de la cromatina que involucran tanto el estado de interfase (G1, S, G2) y todas las fases de la mitosis, a saber: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase (Lacadena 1999; Singh 2002; Naumova et al. 2013). Dyer (1979), realiza un importante trabajo en el cual identifica diferencias en la transición de los cromosomas entre dos estados de plegamiento durante su formación, estos son: interfase y metafase.

En la interfase, los cromosomas descondensados presentan un alto nivel de organización espacial específica según el tipo celular. En la metafase, se identifica un plegamiento homogéneo, independiente del locus, común en todos los cromosomas del genoma y común a varios tipos celulares.

Esta información se relaciona con el fenómeno de asociación somática descrita por diversos autores principalmente durante la interfase (Feldman, Mello-Sampayo & Sears 1966; Singh 2002), el cual hace referencia a la marcada proximidad que se da entre cromosomas homólogos principalmente en estado de interfase, lo cual genera una compartimentalización espacial del núcleo. Incluso se ha llegado a dilucidar en varios estudios vegetales que la asociación somática es un prerrequisito para el apareamiento en meiosis (Nair & Ravindran 1994).

Con respecto a la posición espacial de los cromosomas metafásicos, es difícil relacionarla con la que inicialmente presentan éstos en interfase, debido a que la técnica de squash es una técnica mecánica que influye en la posición real.

Aunque no es posible determinar la ubicación espacial, sí se tienen evidencias de asociación en cromosomas en metafase como lo reporta Nair & Ravindran (1994) trabajando con *Vanilla planifolia*, debido a que las orquídeas presentan diferentes particularidades a nivel cromosómico, entre ellas la mencionada asociación somática (Figura 8). Los autores señalan asociación de cromosomas en metafase en varios patrones tales como: 1) la asociación de extremo a extremo entre dos, tres y hasta cuatro cromosomas; 2) asociación de lado a lado de tres cromosomas y 3) asociación de más de cuatro cromosomas; sugiriendo que la reducción del número cromosómico de esta especie estaría posiblemente relacionada con este tipo de apareamiento.

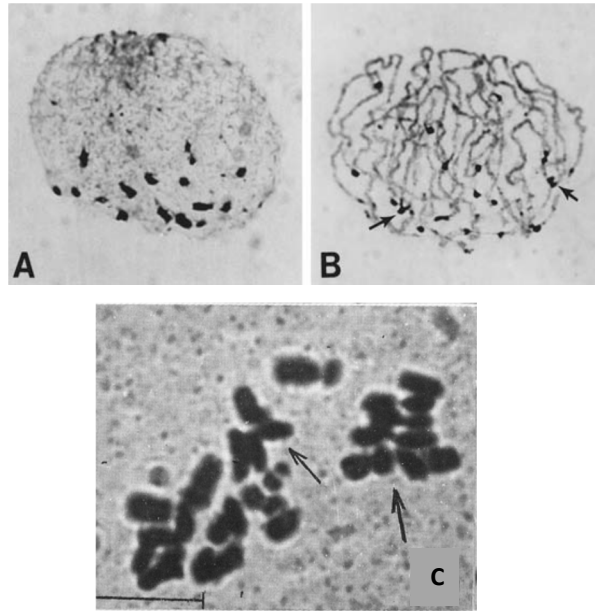


Figura 8. Asociación somática en plantas. A. Célula en interfase de arroz ($2n=14$) con cromocentros (bandas teloméricas) situadas en la parte inferior del núcleo y cinetocoros en la parte superior. La misma tendencia de posición de los telómeros se observa en **B**, pero durante profase temprana. **C.** Evidencia de asociación somática en metafase de *Vanilla planifolia* (las flechas indican los puntos de ligamiento). Fuente: Singh (2002); Nair & Ravindran (1994).

2.9.3 Estructura externa del cromosoma metafásico

En cuanto a la estructura del cromosoma, se distinguen dos puntos importantes. El primero de ellos es la identificación de constricción primaria o centrómero, que es un marcador muy utilizado para determinar la morfología cromosómica. El centrómero está constituido por heterocromatina constitutiva que contiene secuencias cortas repetitivas altamente condensadas, lo que dificulta la penetración del colorante generando la apariencia de ausencia de tinción. Según Singh (2002) un cromosoma monocéntrico (con un solo centrómero) posee brazo corto “p”, brazo largo “q”, ambos constituidos por zonas eucromáticas heterocromáticas y telómeros.

Un segundo descriptor importante es la presencia de la constricción secundaria, la cual puede estar presente en algunos cromosomas del complemento de una determinada especie, los cuales reciben el nombre de cromosomas SAT o “sat-chromosome”. El número de cromosomas SAT varía de una especie a otra. En la constricción secundaria se ubica la región organizadora del nucleolo, la cual contiene cientos de copias de genes codificadores de rRNA. No sólo la presencia de este marcador es importante, sino también la posición del satélite a lo largo del cromosoma. Según Battaglia (1955), el cromosoma SAT puede ser denominado como microsatélite, macrosatélite o satélite lineal. Aunque la presencia de satélites no es una característica constante en algunas solanáceas (Moscone 1989), ellos aparecen regularmente en *Capsicum chacoense* y en otras especies, lo que permite usar cromosomas satelitados como marcadores citogenéticos (Teodoro-Pardo, García-Velázquez & Corona-Torres 2007).

2.9.4 Análisis de cariotipo y descriptores citogenéticos

El genoma nuclear consiste en ADN asociado a proteínas, el cual está organizado dentro de cromosomas. El tamaño del genoma de una planta y el número de cromosomas es propio de cada especie (Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011).

Es así que, cada especie posee cariotipo, que consiste en el ordenamiento de los cromosomas somáticos exhibiendo sus características fenotípicas (Poggio, Espert, & Fortunato 2008; Levitzky 1931) Estas características pueden ser estructurales y cuantitativas y aportan gran información para investigaciones básicas (taxonomía y evolución) y aplicadas (mejoramiento genético). A partir de un cariotipo, se elabora un idiograma, que consiste en la representación gráfica de los cromosomas en base a su longitud relativa, mostrando los grupos de homólogos y marcadores

citogenéticos (Mirzaghaderi & Marzangi 2015).

Dado que los cromosomas están moldeados por un sistema dinámico, producto del proceso evolutivo, el cariotipo permite observar variaciones fácilmente detectables en cuanto a forma, número y tamaño de los cromosomas. Estas tres variables pueden ser afectadas también por rearrreglos estructurales como la fusión céntrica -alterando el número de cromosomas- y la simetría del cariotipo (Poggio & Naranjo 2004).

La información cuantitativa del cariotipo se obtiene a partir de la identificación del principal marcador citogenético, el centrómero. Levan, Fredga, & Sandberg (1964) reportaron que mediante la identificación de la posición del centrómero puede dividirse al cromosoma en dos brazos "S" (short) y "L" (long); los cuales, al ser medidos, brindan valores que permiten calcular índices, como:

a) Arm Ratio o Índice Braquial: Utilizado ampliamente como un indicador de la conocida nomenclatura de Levan et. al. (1964) Este valor propone rangos que van a partir de 1 (si S=L) hasta el infinito $+\infty$ (cuando el límite para S=0) (Figura 9).

$$Arm\ ratio = \frac{L}{S}$$

b) Índice centromérico (IPC): Consiste en la medición de la longitud del brazo corto (S) sobre la longitud total del cromosoma (S + L).

$$IPC = \frac{S}{(S + L)}$$

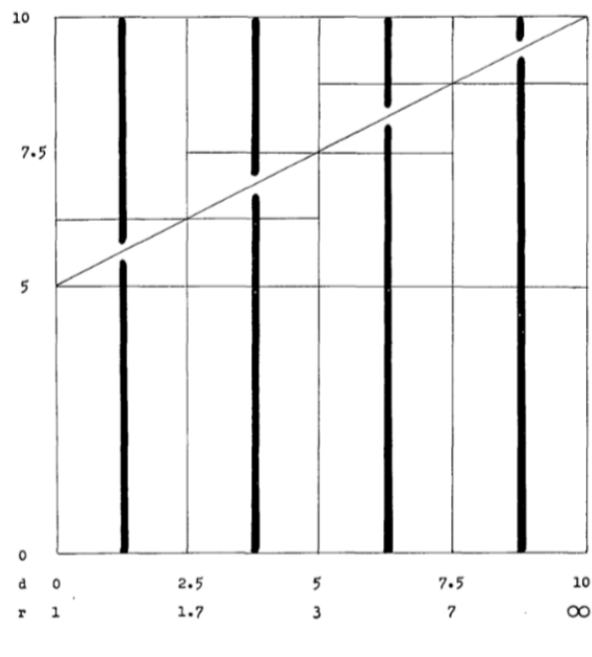


Figura 9 Cromosomas representando el rango de variación de la posición del centrómero, dividido en cuatro partes iguales *m*, *sm*, *st* y *t*, según lo establecido por Levan, Fredga & Sandberg (1964).

Tabla 1. Nomenclatura de los cromosomas según los índices establecidos por Levan, Fredga, & Sandberg (1964).

Término	Posición centromérica	Índice braquial	Índice centromérico X 100
M	Punto medio	1	50
m	Región media	1 - 1.7	50 - 39.5
sm	Región submedia	1.7 - 3	39.5 - 25
st	Región subterminal	3 - 7	25 - 12.5
t	Región terminal	7 - ∞	12.5 - 0
T	Punto terminal	∞	0

Una vez definida la morfología de los cromosomas, se puede determinar la simetría y la asimetría cromosómica. Ambos conceptos fueron desarrollados

inicialmente por Levistsky (1931) quien definió la simetría como una característica de aquellos cariotipos conformados predominantemente por cromosomas metacéntricos (m) y submetacéntricos (sm) de aproximadamente el mismo tamaño. Por tanto, la asimetría se incrementa al cambiar la posición del centrómero, disminuyendo el tamaño del brazo corto (S), aumentando la longitud del brazo largo (L), esto hace el cariotipo más heterogéneo (Peruzzi & Eroğlu 2013).

El concepto de asimetría es uno de los más discutidos durante los últimos años, partiendo desde Levistsky (1931) quien distingue dos tipos de estimación: la intracromosómica (A1), que hace referencia a cariotipos cuyos cromosomas presentan predominantemente centrómeros terminales o subterminales; y la intercromosómica (A2) que se refiere a la heterogeneidad entre el tamaño de los cromosomas que conforman un cariotipo. Siguiendo esta misma clasificación, Romero (1986) presentan un método cuantitativo para determinar las asimetrías, siendo:

a) Asimetría intra-cromosómica (A₁): rango de 0 a 1.

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{b_i}{B_i}}{n}$$

La ecuación ha sido formulada para obtener los valores más bajos cuando los cromosomas tiendan a ser metacéntricos. Así, “n” es el número de pares de cromosomas homólogos, “b_i” es el promedio de la longitud del brazo corto (S) de cada par de homólogos, “B_i” es el promedio de la longitud del brazo largo (L) de cada par de homólogos. Nótese que A₁ no depende del número ni del tamaño de los cromosomas.

b) Asimetría inter-cromosómica (A_2): Ha sido estimada por el coeficiente de dispersión de Pearson, siendo:

$$A_2 = \frac{S_{CL}}{X_{CL}}$$

Donde, " S_{CL} " es la desviación estándar y " X_{CL} " es la media de la longitud total los cromosomas (CL) por cada muestra. Como vemos, A_2 no depende del número de cromosomas.

Unos pocos autores han tratado de combinar ambas estimaciones de asimetría en un solo índice (Peruzzi & Eroğlu 2013). Por ejemplo, Paszko (2006), quien a su vez propone un método estadístico para la estimación de la asimetría intracromosómica, siendo:

$$\text{Índice de asimetría (AI)} = \frac{CV_{CL} \times CV_{CI}}{100}$$

Donde " CV_{CL} " expresa la variación relativa en la longitud del cromosoma ($\sim A_2$) y " CV_{CI} " es la variación relativa del índice centromérico ($\sim A_1$). La interpretación del índice según Paszko sería, el valor más alto indica alta heterogeneidad de la longitud de los cromosomas y/o del índice centromérico. Entonces para altos valores de AI, el cariotipo es considerado asimétrico, para valores bajos, es considerado simétrico.

Además de las características cuantitativas, tenemos las características estructurales o descriptivas (Figura 10). Éstas hacen referencias a la cantidad y localización de heterocromatina (ADN repetitivo no codificante) observables mediante técnicas de bandeo, ejemplo: bandeo C; así como también la identificación de ADN satélite y regiones organizadoras del nucleolo (RON).

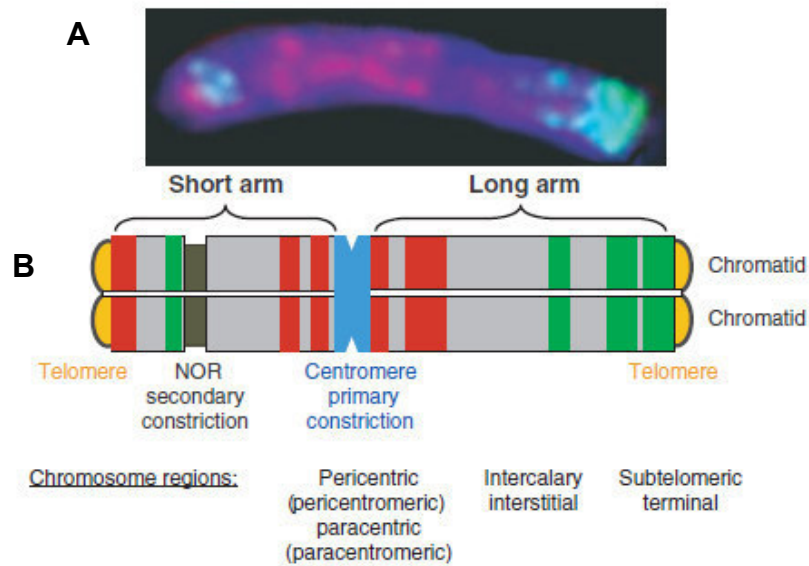


Figura 10. Características estructurales del cromosoma mitótico de plantas

En A se muestra una microfotografía con luz fluorescente de un cromosoma teñido de color azul con el fluorocromo DAPI. La hibridación in situ muestra la localización de dos secuencias de ADN repetitivo detectado por rojo y verde. En B se muestra un diagrama de un cromosoma metafásico con dos cromátidas. En la parte central se observa el centrómero o constricción primaria, las zonas paracentroméricas contienen largos grupos de secuencias repetitivas en tándem y son frecuentemente ricas en elementos transponibles.

La eucromatina, presenta baja tinción en las preparaciones citológicas, posee muchos genes con altos niveles de actividad transcripcional y altos niveles de recombinación en la meiosis. Puede contener elementos transponibles ampliamente dispersos.

La heterocromatina, presenta fuerte tinción en las preparaciones citológicas, rica en secuencias repetitivas en tándem y algunos elementos transponibles. No participa en la meiosis y por lo general los genes que contiene son pocos y tienen una baja actividad transcripcional (Heslop-Harrison & Schwarzacher 2011).

2.9.5 Alteraciones numéricas:

Tabla 2. Definiciones de alteraciones numéricas comunes en plantas

Término	Definición	Ejemplo: <i>Solanum tuberosum</i> (2n =24) y <i>S. phureja</i>
Número básico (X)	Complemento viable de no-homólogos indispensables y necesarios para el desarrollo total de un individuo. Generalmente estable en familias de plantas.	Solanáceas $x = 12$
Euploide	Denota el número normal (silvestre) de cromosomas en una especie, usualmente un múltiplo exacto del número haploide "n".	La papa común, <i>S. tuberosum</i> tiene un número cromosómico comúnmente reportado de $2n=24$.
Diploide	Número que se refiere a dos juegos de cromosomas (2n) que son homólogos, uno de cada parental. La mayoría de los animales son diploides. En organismos diploides, el número haploide es igual al número básico.	Entonces esta papa es diploide: $2n = 2x = 24$, donde $n = x = 12$.
Haploide	Número que se refiere a un solo juego de cromosomas (1n), como en gametos o ciertas cepas de levaduras	Gametofitos de <i>S. tuberosum</i> tendrán un $n = 12$.
Ploidía (nivel de...)	Es el número de juegos de cromosomas (sets) en una célula o en un organismo.	<i>S. phureja</i> (papa criolla) posee dos niveles de ploidía: diploide y triploide.
Poliploide	denota una célula con más de dos juegos de cromosomas (triploide – 3n, tetraploide 4n, pentaploide 5n, etc.)	Célula triploide de <i>S. phureja</i> tendrá $2n = 3x= 36$.
Aneuploidía	Denota el estado de una célula que tiene un número cromosómico que se desvía del múltiplo del número haploide. Se refiere al aumento o disminución de cromosomas, mas no del juego completo.	Una de las aneuploidias que presentó <i>S. phureja fue: 2n = 18 > 2n = 2x – 6 = 18</i>
Mixoploidía	Tipo de aneuploidía asociada con la regeneración de plantas <i>in vitro</i> a partir de callos no diferenciados, además de otros factores: tipo y concentración de reguladores de crecimiento, duración del cultivo y el grado de endopoliploidía (duplicación de los cromosomas sin la subsecuente cariocinesis y citocinesis), así como el tipo de explante empleado (Weber et al., 2008)	
Mixoploide	Cuando un individuo posee más de un número cromosómico en células de un determinado tipo de tejido.	

Información tomada de Sánchez (2014); Gómez et al. (2012); Potapova & Gorbysky (2017).

Los genomas de las plantas son variables en cuanto a tamaño y complejidad; estos cambios suelen generar variaciones inmediatas sobre el fenotipo y el fitness de un individuo (Tabla 2), pero a largo plazo pueden permitir transiciones evolutivas. Por ello, dos de los fenómenos importantes en este sentido son la poliploidía y la aneuploidía.

La primera de ellas, la poliploidización, es considerada por varios autores como un importante mecanismo de especiación en plantas, un ejemplo de ello son las angiospermas (plantas con flores), en las cuales, por ejemplo, para originar nuevas especies por poliploidización se necesitó además de una serie de eventos de baja probabilidad, como hibridación, formación de gametos no reducidos, establecimiento y sobrevivencia (Soltis et al. 2015). Los dos últimos eventos mencionados son la gran barrera que deben alcanzar los poliploides, porque, al igual que el resto de mutaciones que afectan el fitness, la poliploidización reduce la fertilidad y/o sobrevivencia (Otto 2007).

La aneuploidía, en cambio, genera alteraciones a nivel de proteoma debido a la pérdida o ganancia de un cromosoma, lo que ocasiona una dosis génica desbalanceada. Un cariotipo euploide es establecido por selección natural debido a que presenta el mejor fitness para un determinado nicho ecológico; si se dieran casos de aneuploidias, se alteraría la ruta metabólica generando cambios fisiológicos dependiendo de cuál sea el cromosoma extra o perdido. Este hecho se traduce, según Potapova & Gorbsky (2017), en un desbalance en el nivel de proteínas lo cual podría afectar la capacidad de adaptación y reducir el fitness (Figura 11).

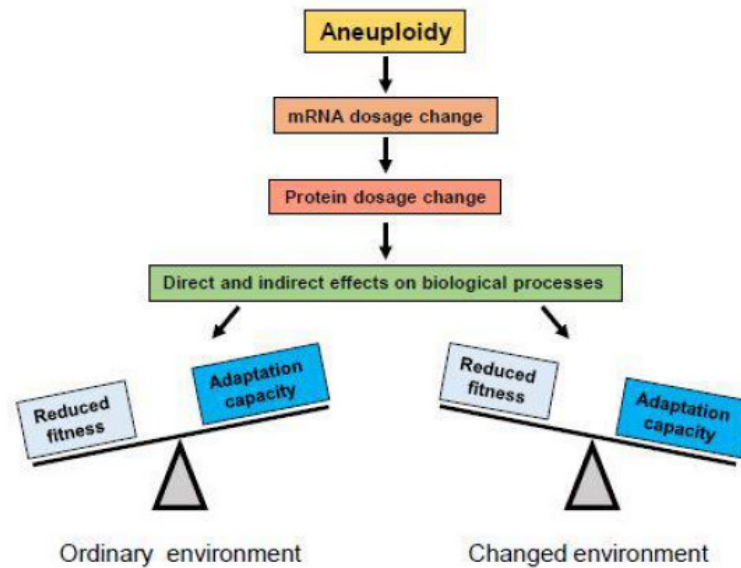


Figura 11. Consecuencias de la aneuploidía. Las alteraciones a nivel de proteínas son una desventaja para organismos aneuploides recién formados que se enfrentan al ambiente ordinario del cual provienen sus parentales con cariotipo euploide. Si fuera el caso de que este nuevo organismo aneuploide se enfrente a un ambiente cambiante, entonces este cambio en el dosage de proteínas puede convertirse en una herramienta que le permita mejorar su adaptación. Fuente: Potapova & Gorbsky (2017).

2.9.6 Antecedentes sobre la citogenética de *P. peruviana*

El número básico para el género *Physalis* fue determinado por Menzel (1951) quien, en una revisión de 25 especies del género, encontró 24 y 48 cromosomas; concluyendo que 12 es el número básico (x) para el género, siendo las células con 48 cromosomas, tetraploides.

Esto concuerda con lo reportado por Badr et. al. (1997) quien junto a sus colaboradores determina que, de 45 especies estudiadas, 32 presentan un número básico de cromosomas $x=12$, lo cual representa 8 de los 15 géneros examinados de la familia Solanaceae. Dentro de estos géneros con $x=12$ está *Physalis*, y además reportan el número cromosómico de *P. peruviana* como $2n=48$.

En el año 2003, Villamizar et. al., analizan la variación fenotípica de los frutos colombianos que se evidencia en esta especie, estudiando ecotipos de aguaymanto de distintas localidades. Un enfoque de mayor profundidad lo dio Bonilla et al. (2008) al analizar 43 accesiones de aguaymanto empleando la técnica de marcadores moleculares RAMs (Random Amplified Microsatellites). La parte citogenética ha sido desarrollada por Rodríguez & Bueno (2006) en base a ecotipos silvestres y cultivado, encontrándose que los ecotipos silvestres de Colombia presentan un número cromosómico que varía entre $2n=3x=24$, y $2n=4x=32$ y el ecotipo de Kenia presenta $2n=48$. Sumado a esto, se observó que las características morfológicas de la planta guardan una relación directa con el número cromosómico, esto es, a mayor número cromosómico, mayores valores morfométricos de hoja y fruto.

Teniendo en cuenta la amplia distribución de *P. peruviana*, otro estudio realizado en la India por Bala & Gupta (2011) reporta la presencia de citotipos intraespecíficos (cada uno de los grupos poliploides que compone una especie) como diploides, tetraploides y octoploides, además de un citotipo hexaploide propio de la especie de ese lugar. Este hecho concuerda con lo que sucede dentro de la familia de las solanáceas, en la cual, se han reportado diversos niveles de ploidía entre plantas cultivadas tales como tomate, papa y tabaco.

Finalmente, Sánchez (2014) realizó en Colombia, un trabajo a partir de 15 plantas cultivadas y 34 plantas de aguaymanto obtenidas por cultivo de anteras, en las cuales se encontraron plantas con $2n = 4x = 48$, 32 y mixoploides; además, plantas $n = 2x = 24$. Además, analizó tres ecotipos, reportando para el ecotipo Colombia y Kenia $2n=48$, y para el ecotipo Perú, $2n=44$.

3. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis General:

Existen variaciones cromosómicas a nivel de número y estructura entre los ecotipos San Pablo, Celendín y Cajabamba de aguaymanto, las cuales pueden ser evaluadas mediante la técnica de conteo cromosómico.

3.2 Hipótesis Nula:

No es posible identificar citogenéticamente los tres ecotipos de *P. peruviana* empleando conteo cromosómico y nivel de plodía.

4. OBJETIVOS:

4.1 Objetivo general:

Determinar el número cromosómico de tres ecotipos cultivados de *P. peruviana* San Pablo, Celendín y Cajabamba procedentes del lugar del mismo nombre.

4.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la hora mitótica de los tres ecotipos.
- Estandarizar el protocolo citogenético para *P. peruviana*.
- Evaluar la presencia o ausencia de niveles de ploidía entre los tres ecotipos de *P. peruviana* procedentes de Cajamarca.
- Caracterizar morfológicamente los cromosomas de *P. peruviana*.
- Determinar la fórmula cariotípica de cada uno de los ecotipos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de colecta

Para el presente trabajo se utilizaron muestras de tres ecotipos cultivados de aguaymanto, los cuales fueron colectados en las provincias de San Pablo, Celendín durante el mes de mayo del 2015 y Cajabamba en octubre del 2015 pertenecientes al departamento de Cajamarca. Cada ecotipo toma el nombre del lugar de procedencia (Tabla 3).

Tabla 3. Datos geográficos *in situ* de las zonas de colecta por ecotipo.

Ecotipo	Ubicación		Altura (msnm)	Coordenadas	
	Provincia	Distrito		Latitud	Longitud
San Pablo	San Pablo	Tumbadén	2662	S°7° 5'43.9"	O°78° 49'13.9"
Celendín	Celendín	Caserío de Sta Rosa	2620	S°6° 52'35.9"	O°78° 07'49"
Cajabamba	Cajabamba	Malcas	2058	S°7° 29'55.1"	O°78°07'55.2"

Cajamarca, ubicada en el norte del Perú, presenta una topografía muy variada debido a la presencia de la Cordillera de los Andes, la cual atraviesa este departamento generando diferentes zonas ecológicas con un variado sistema de climas, propiciando la existencia de numerosos ecosistemas, así como de diversas especies que se adaptan a estas condiciones (Sánchez & Sánchez 2010).

Con respecto al primer caso, San Pablo (Figura 12) - situada al noroeste de Cajamarca - la colecta se realizó en los campos de cultivo de la empresa AgroAndino SRL, con un área aproximada de 3 500 m²; los cuales presentan un mayor cuidado agronómico producto de una selección masal, con un sistema de

plantación lineal, estricto sistema de tutoreo y poda de las plantas. Las plantas muestreadas son del tipo semierecto, las cuales se encontraban en plena fase de producción con una edad aproximada de siete meses.



Figura 12. Colecta en San Pablo. A. Se muestra el área de cultivo de AgroAndino SRL. **B.** Estado de la planta con tutorales y colecta con asesoría del Ing. Jaime Sánchez. Fotos: Y. Carbajal (2015).

En el caso de Celendín (Figura13) – situada al noreste de Cajamarca, cercana a la cordillera occidental - el área aproximada de cultivo fue de 1200 m², perteneciente a la asociación AZ Ingenieros, dirigida por el Ing. Guido Araujo. Con respecto al manejo del cultivo se observó el uso de tutores. Las plantas presentaron estado regular, las plantas adultas en etapa final de producción evidenciaron plagas herbívoras y algunos ejemplares fueron susceptibles a infección por hongos. Celendín se caracteriza por ser una zona con alta presencia de polinizadores como abejas y otros, lo cual, según el Ing. Araujo, favorece los cruzamientos entre plantas silvestres y cultivadas.



Figura 13. Colecta en Celendín. A. se muestra el área de cultivo. B. Estado de la planta con tutorales y colecta. Fotos: Y. Carbajal (2015).

Finalmente, en Cajabamba (Figura 14) lugar cuyo valle interandino es atravesado por el río Crisnejas y de temperaturas más cálidas - se muestreó en los campos de cultivo del Ing. Lenin Abanto. El área de cultivo fue de aproximadamente 2500 m², encontrándose plantas en etapa de producción, pero de menor tamaño en comparación con las otras zonas. No se observó un manejo agronómico vigilante, sólo surcos lineales y alta presencia de polinizadores e insectos herbívoros. Un detalle importante, fue observar que junto a las plantas de aguaymanto solía crecer otra planta cuyos frutos y flores presentaban una semejanza morfológica notoria a los de *P. peruaviana*. Esta planta fue colectada y llevada al Museo de Historia Natural UNMSM, donde fue identificada como *Nicandra physalodes*, Solanaceae (ver Anexo 8).



Figura 14. Colecta en Cajabamba. A. área de cultivo. **B.** Estado de la planta, pequeño tamaño. **C.** Evidencia de la convivencia de *P. peruviana* y *N. physalodes* en los campos de cultivo. **D.** Frutos de *P. peruviana*. **E.** Frutos de *N. physalodes* Fotos: Y. Carbajal (2015).

5.2 Colecta de material biológico

En cada provincia se realizó un muestreo no probabilístico colectándose frutos con cáliz de diez plantas ubicadas en campos de cultivo de 1000 m² aproximadamente; los cuales fueron colocados en cestas de plástico transparente de 250 gramos, con tapa y orificios para la circulación del aire, para su traslado al laboratorio.

Muestras prensadas de cada ecotipo fueron entregadas al Herbario del Museo de Historia Natural UNMSM para su identificación taxonómica.

5.3 Obtención de semillas

Para la obtención de semillas, se retiró el cáliz de cada uno de los frutos pertenecientes a un ecotipo, procediendo a colocarlos bajo chorro de agua y con ayuda de un colador se fueron separando las semillas de los restos de pulpa y cáscara. La ausencia de membranas y de hilos placentarios en las semillas facilitó esta labor, hecho que no sucede, por ejemplo, al extraer semillas de tomate (Peña 2010).

Finalmente, las semillas fueron colocadas en papel absorbente para retirar el exceso de agua y colocadas bajo sombra a temperatura ambiente para el secado. Luego de tres días las semillas de cada ecotipo fueron almacenadas en tubos de centrífuga de 10 ml y conservadas a 4 °C por más de treinta días.

5.4 Proceso de germinación

La germinación se realizó en condiciones de laboratorio. Las semillas de cada ecotipo fueron colocadas en placas Petri con papel filtro humedecido el cual contenía diez divisiones correspondientes a cada individuo muestreado (Figura

16E). En cada división se colocó tres semillas por individuo, seguidamente la placa Petri era incubada a 37 °C durante una hora y treinta minutos, posterior a eso se retiraba la placa y se colocaba a temperatura ambiente y a exposición de luz solar indirecta.

Durante el proceso de germinación se evaluaron las siguientes variables por ecotipo, según Suni, Cano & Vadillo (2001) y Vadillo, Suni & Cano (2004).

A. Potencia germinativa (PG): Calculada como el porcentaje de germinación total al finalizar el ensayo.

$$PG = \frac{\text{total de semillas germinadas}}{\text{total de semillas sembradas}} \times 100$$

B. Velocidad de germinación (M): Se refiere a la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación.

$$M = \sum \frac{(n_i)}{t}$$

Donde: “ n_i ” es el número de semillas germinadas en el día; “ t ” es el tiempo de germinación total, desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

5.5 Determinación de la hora mitótica

Después del desarrollo de las raíces hasta alcanzar una longitud aproximada de 0.5 cm se colectaron semillas con raíces, por hora, durante 12 horas (tres repeticiones por tiempo). El material fue hipotonizado en agua por 15 minutos y luego fijado en solución de 3:1 / etanol: ácido acético durante 24 horas a 4 °C. La preparación citológica se realizó siguiendo el protocolo establecido por Rodríguez & Bueno (2006).

Se tomaron registros fotográficos de cuatro campos por lámina a objetivo de 40X, con un total de tres repeticiones por hora de corte. Esta metodología fue reportado por Ferrer-Pereira, Alcorcés-De-Guerra, & Méndez-Natera (2007) en la determinación del ciclo mitótico de dos cultivares de *Gossypium hirsutum* L. y dos ecotipos de *Gossypium barbadense* L.

El conteo de células por campo se realizó empleando el software Image J y su herramienta “cell counter”. Posteriormente se realizó el cálculo del índice mitótico (IM) y el índice metafásico (IMF) (Poggio et al. 2008), con lo cual se determinó la hora de corte adecuada.

$$IM = \frac{N^{\circ} \text{ de células en división}}{N^{\circ} \text{ Total de células observadas}} \times 100$$

$$IMF = \frac{N^{\circ} \text{ de células en metafase}}{N^{\circ} \text{ total de células en mitosis}} \times 100$$

5.6 Preparación citogenética

El objetivo de la estandarización del protocolo fue obtener placas metafásicas con cromosomas individualizados. La estandarización de la técnica del squash necesitó del ajuste en cuanto a tiempo de exposición, concentración y temperatura del reactivo a utilizar. Se testearon las siguientes variables según cada etapa del protocolo en base a lo reportado por Rodríguez & Bueno (2006) y Sánchez (2014) en aguaymanto y Teodoro - Pardo et al. (2007) en *Capsicum annuum* (Tabla 4).

Tabla 4. Proceso de estandarización del protocolo citogenético para *Physalis peruviana*.

Pasos	Reactivo químico	Concentración	Tiempo	Temperatura	Condición
Pretratamiento	colchicina + DMSO	0,25% + 2%	1h 20min	T amb	Oscuridad
			1h 40 min	T amb	Oscuridad
			2 h	T amb	Oscuridad
Hipotonización	H ₂ O dd		30 min	37°C	Luz
	KCl	0,075M	30 min	37°C	Luz
Fijación	Farmer	3:1 (v/v)	12h	4°C	Oscuridad
			máx 24h	4°C	Oscuridad
			mayor a 24h	4°C	Oscuridad
Aislamiento de meristemo radicular en estereoscopio					
Hidrólisis	HCl		10min	T amb	a 14 500rpm
			10min	T amb	a 14 500rpm
			10min	T amb	a 14 500rpm
Enjuague	H ₂ O dd		2*5	T amb	
			3	T amb	vórtex
			5	T amb	vórtex
Maceración 1	Targa		5-7min	T amb	Luz
			10 min	T amb	Luz
Tinción	Ác. Acético		5min	T amb	Luz
			5min	T amb	Luz
	Orceína lacto-acética	2%	20min	T amb	Luz
			40min	T amb	Luz

Luego del proceso de estandarización, el protocolo final se dividió en dos días de trabajo, debido al tiempo adecuado para fijación: 24 horas.

Día 1: Una vez germinada la semilla, las semillas con raíz fueron pretratadas con una solución de colchicina 0,25% y DMSO (dimetil sulfóxido) 2%. Se dejaron en reposo en oscuridad durante 1 hora y 20 minutos a temperatura ambiente, luego fueron hipotonizadas con agua destilada por un tiempo de 30 minutos. La fijación se realizó empleando la solución de 3:1 / etanol: ácido acético fría, por un tiempo máximo de 24 horas a 4 °C.

Día 2: Luego de un tiempo de fijación por 24 horas, se procedió a la disección de las raíces con la ayuda de un microestereoscopio. El procedimiento consistió en separar la raíz de la semilla y a su vez retirar la cubierta o caliptra de la parte superior del tejido meristemático apical.

Posteriormente el tejido fue hidrolizado mediante centrifugación con una solución de HCl 5N por 10 minutos a 14 500 rpm, y macerado con solución Targa durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se aisló totalmente el meristemo. El montaje se llevó a cabo empleando ácido acético al 45% como mordiente durante 5 minutos seguido de tinción con orceína lacto-acética al 2% por 40 minutos. Finalmente se realizó el punteo y squash asegurando la dispersión del tejido meristemático.

Es necesario acotar que luego de 12 meses de almacenamiento de las semillas, la segunda parte del protocolo (día 2) no tuvo resultados exitosos con las raíces obtenidas a partir de estas semillas; por lo cual se realizaron las siguientes modificaciones en la hidrólisis:

Día 2B: Luego de un tiempo de fijación de 24 horas, se procedió a la disección de las raíces con la ayuda de un microestereoscopio. El procedimiento consistió en

separar la raíz de la semilla y a su vez retirar la cubierta o caliptra de la parte superior del tejido meristemático apical.

Posteriormente el tejido fue hidrolizado mediante una combinación de ácido y enzimas. Primero se incubaron las raíces en un coctel enzimático conteniendo (celulasa y pectinasa) a 37 °C por 10 minutos y luego una solución de HCl 3N por 10 minutos a 14 500 rpm. Finalizado este paso se enjuaga con agua destilada en agitación. Después de este paso se continúa con los tratamientos con targa, ácido acético 45% y orceína lacto-acética tal como se detalló líneas arriba.

5.7 Análisis de placas metafásicas

Las observaciones se realizaron en microscopio óptico Leica DM500 empleando el objetivo de 10X para buscar campos con metafases, de 40X para fijar una placa metafásica y finalmente objetivo de 100X para el registro fotográfico. Para la toma de microfotografías se empleó el software LAS EZ de Leica.

Para conteo de número cromosómico se contó un total de 30 placas por ecotipo y de ellas, se tomaron las 5 mejores para obtener los datos morfométricos y el cariotipo.

El análisis de las microfotografías se inició con un esquema en papel canson para individualizar los cromosomas mediante la identificación del centrómero y su correspondiente numeración al azar, determinando así el número cromosómico de la placa. El siguiente paso consistió en realizar las mediciones de los cromosomas e identificar su tipo según la morfología, para ello se empleó el software IdeoKar disponible de forma gratuita en la web.

Ideokar es un software diseñado por Mirzaghaderi & Marzangi (2015), investigadores de la Universidad de Kurdistan, el cual permitió la medición de los cromosomas en base a una escala definida, por lo cual brinda datos más reales y comparables con los de otros trabajos. Además, permitió señalar la presencia de marcadores citogenéticos como constricción primaria o centrómero, constricción secundaria, RON (región organizadora del nucléolo) y regiones de bandas. A partir de las mediciones, el programa indicó el tipo de cromosoma siguiendo los índices establecidos por Levan et al. (1964). Con esta información, el software calculó parámetros cromosómicos y cariotípicos y generó un idiograma.

Una de las desventajas del programa es que no agrupa los pares de homólogos, para ello necesita de la indicación del experimentador. De esta manera, se exportaron los datos y se filtraron utilizando el programa Microsoft Excel 2010 para determinar los pares de cromosomas homólogos y finalmente se trazaron los cromosomas por segunda vez en el programa, pero indicando ya, los pares de homólogos. Como respaldo estadístico, Ideokar utiliza la desviación estándar.

Parámetros como *arm ratio* o índice braquial (AR), tipo de cromosoma, longitud total del complemento haploide (HCL) e índice de asimetría intracromosómica (A_1) e intercromosómica (A_2) fueron obtenidos automáticamente por el programa.

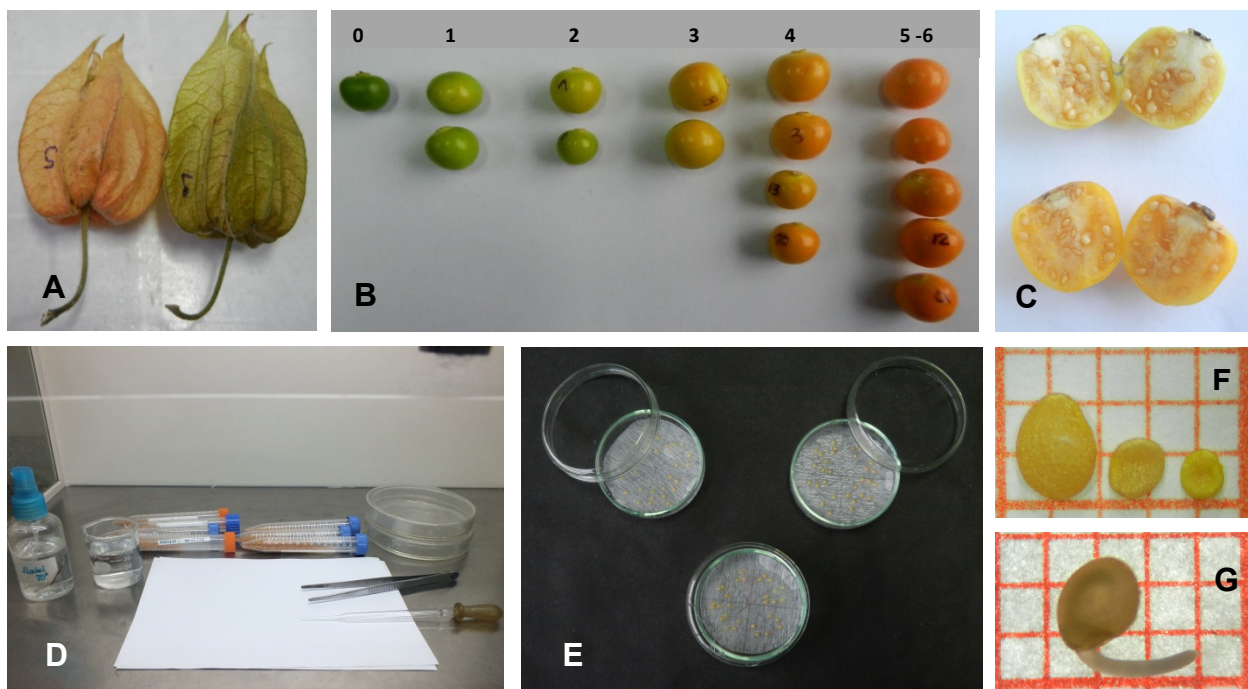


Figura 16. Proceso de extracción y germinación de semillas. **A.** Frutos de aguaymanto cubierto por cáliz acrecente. **B.** Escala de colores según el grado de maduración del fruto, establecida según norma ICONTEC de Colombia (1999), grados de 0 a 6. **C.** Vista interna de la baya con semillas sin hilos placentarios. **D.** Proceso de siembra de semillas en condiciones de laboratorio. **E.** Semillas en proceso de germinación. **F.** Se muestran tres semillas de aguaymanto, de las cuales, la de mayor tamaño (2 mm aprox.) es el estándar y las seleccionadas para la siembra. **G.** Emergencia de la raíz con un tamaño aproximado de 2.5mm, apta para iniciar protocolo citogenético. Fotos: Y. Carbajal (2015).

6. RESULTADOS

6.1 Proceso de germinación:

Para analizar el proceso germinativo de los tres ecotipos en estudio, se desarrolló un test de germinación a partir de la siembra de 30 semillas por ecotipo, realizándose cinco repeticiones en cada caso para mayor confiabilidad.

En ensayos previos, se observó que las semillas de menor tamaño y de color diferente no germinaban, por lo cual para este test se realizó una selección de las semillas morfológicamente aptas.

En líneas generales, como parte del proceso de germinación, se consiguió romper la latencia mediante la incubación de las semillas – en una placa Petri con papel filtro humedecido- a 37 °C durante una hora y media. Empleando este procedimiento el inicio de la germinación se dio entre los días 5 y 6 para los tres ecotipos; en contraposición a ello, cuando se sembraron las semillas sin la incubación previa, el inicio de la germinación se dio entre los días 9 y 11 después de la siembra.

A partir de los datos obtenidos del monitoreo del proceso de germinación - desde el día 0 hasta el día 14 - se calcularon los parámetros a evaluar como potencia germinativa (% germinación), velocidad de germinación y porcentaje acumulado de germinación (Suni et al. 2001; Vadillo et al. 2004). Se analizó la normalidad y homocedasticidad de las dos primeras variables, encontrándose que ninguna de ellas cumplía con estos requisitos. Ante la ausencia de normalidad, se procedió a evaluar empleando las pruebas no paramétricas de Kruskal - Wallis y U de Mann - Whitney.

❖ Potencia germinativa

Se refiere al porcentaje de germinación del total de semillas sembradas. Para el caso del ecotipo Cajabamba, las repeticiones presentan un porcentaje de germinación con una media de 93.33 %, encontrándose dos valores extremos, un máximo de 100 % de germinación y un dato atípico de 86.67 %. Con respecto a Celendín, los valores del porcentaje de germinación oscilan entre 92.59 % y 100 %, con una media de 96.30%. Finalmente, el ecotipo San Pablo, evidencia un rango de valores más pequeño (96.67 % a 100 %) con valores más altos y sin valores atípicos, siendo la media de la variable en estudio el 100 % de germinación (Tabla 5).

Por tanto, el análisis estadístico para esta variable indica que no se observó una diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los ecotipos, como se observa en la Figura 17, de manera que todos los ecotipos pertenecen a un mismo grupo A. Sin embargo, cabe resaltar que para los tres ecotipos el porcentaje de germinación está por encima del 90%, lo cual evidencia una alta viabilidad de la semilla.

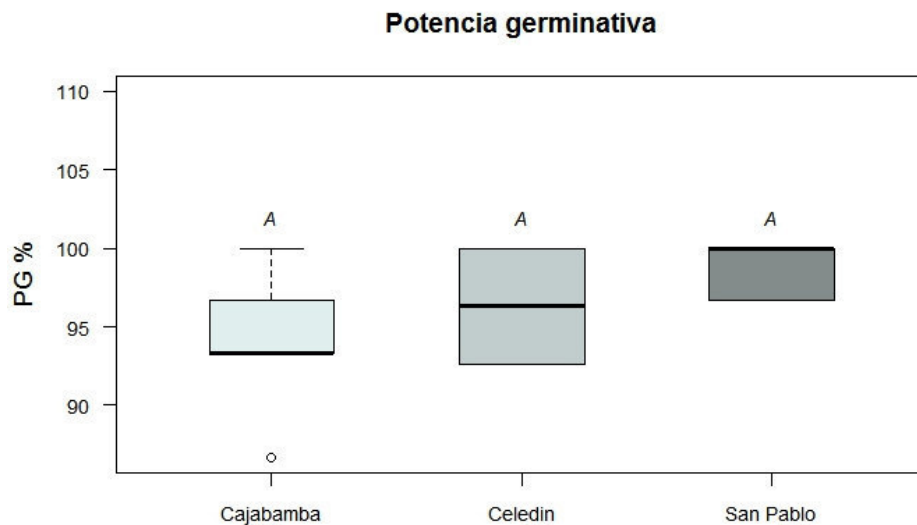


Figura 17. Diagrama de cajas de la potencia germinativa (PG%) de los tres ecotipos, los cuales conforman un mismo grupo (A) y cuyos valores superan el 90 % de éxito en el proceso de germinación.

Tabla 5. Tabla de comparación utilizando la Prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del $\alpha=0.05$, para la variable Potencia de Germinación (PG%) por ecotipo.

	Ecotipo	Mediana
1	Cajabamba	93.33 ^a
2	San Pablo	100 ^a
3	Celendín	96.3 ^a

*Medias con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales.

❖ **Velocidad de germinación**

Esta variable se refiere a la relación entre el número de semillas germinadas por el número de días que les toma realizar dicho proceso. Este índice fue evaluado en los tres ecotipos bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad.

Como se evidencia en la Figura 18 mediante la comparación de las medianas, los ecotipos Cajabamba y San Pablo presentan valores relativamente cercanos: 3.59 semillas/día y 3.55 semillas/día respectivamente, mientras que el ecotipo Celendín tiene una mediana de 3.32 semillas/día, siendo el valor más bajo.

Para una mejor estructuración de los resultados, los análisis estadísticos evidenciaron que no existe diferencia significativa entre los ecotipos con respecto a esta variable, perteneciendo todos a un mismo grupo (Tabla 6).

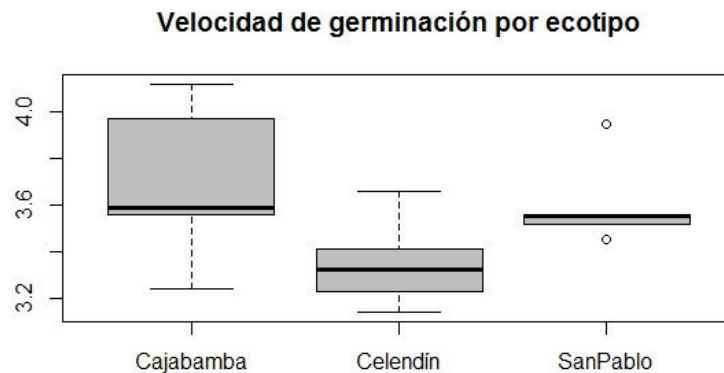


Figura 18. Gráficos de caja generado para la variable Velocidad de Germinación.

Tabla 6. Tabla de comparación utilizando la Prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del $\alpha=0.05$, para la variable Velocidad de germinación por ecotipo.

	Ecotipo	Mediana
1	San Pablo	3.550 ^a
2	Cajabamba	3.590 ^a
3	Celendín	3.320 ^a

❖ **Porcentaje acumulado de germinación**

Es una variable que permite interpretar el comportamiento de las dos variables anteriormente mencionadas. Teóricamente no existe una relación directa entre porcentaje de germinación y velocidad de germinación (Vadillo et al. 2004).

Como se observa en la Figura 19, el día 5 los tres ecotipos mantienen un comportamiento semejante; sin embargo, hacia el día 6 y/o 7, el ecotipo Cajabamba alcanza un mayor porcentaje de semillas germinadas, a diferencia de los otros dos ecotipos que van germinando en menor medida. Recién al octavo día aproximadamente, el ecotipo Celendín alcanza un mayor número de semillas germinadas con respecto al total. Estos datos se relacionan con lo obtenido para la variable Velocidad de Germinación. El ecotipo San Pablo mantiene una progresiva curva ascendente que se hace notoria hacia el final de la recta, sobreponiéndose a los otros dos ecotipos, puesto que - de los tres en evaluación - es el único ecotipo que alcanza el 100% de germinación del total de semillas sembradas, seguido de Celendín y Cajabamba respectivamente.

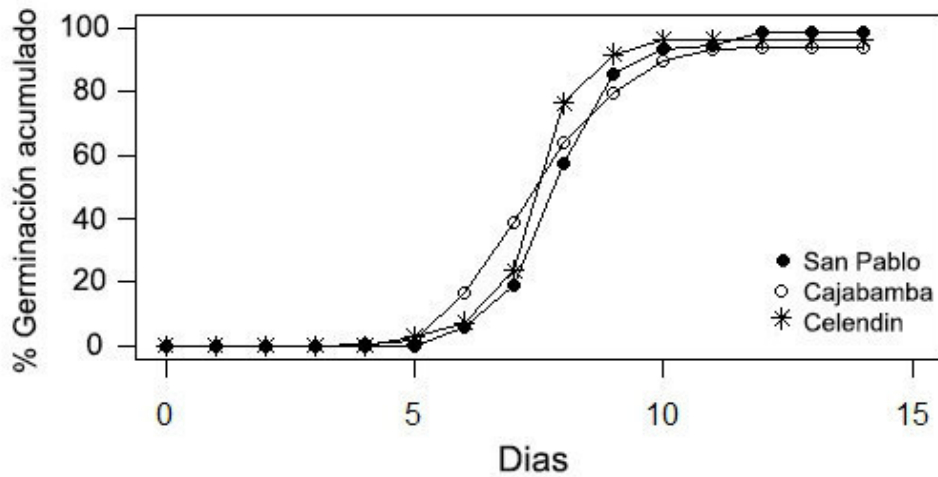


Figura 19. Porcentaje de germinación acumulado para los tres ecotipos.

6.2 Determinación de la hora mitótica:

Siguiendo lo establecido por Ferrer-Pereira et al. (2007), se determinó la hora mitotítica de los ecotipos. En el rango de 12 am a 12 del mediodía, por hora se cortaron tres raíces, las cuales fueron hipotonizadas en agua destilada y fijadas directamente en la solución etanol: ácido acético (3:1), obviando el paso de pretratamiento (sin colchicina). Esto último con el objetivo de observar el desarrollo normal de la mitosis en las células del meristemo radicular (Figura 20).

El índice metafásico (IMF) para los materiales del estudio fue superior al 70% entre las 7 y las 7:30 am, realizándose la colecta de raíces en el siguiente orden San Pablo, Celendín y Cajabamba, debido a que se encontró una diferencia de minutos para picos con mayor número de metafases y menor número de prometafases tardías, siendo 7:05 am; 7:10 am y 7:25 am respectivamente.

Aunque el valor de IMF más elevado se encuentra en el rango mencionado, se reporta una tendencia a que los valores de índices metafásicos encontrados después de las 7:30 am sean relativamente mayores que los obtenidos en el rango

de 12 am a 7 am.

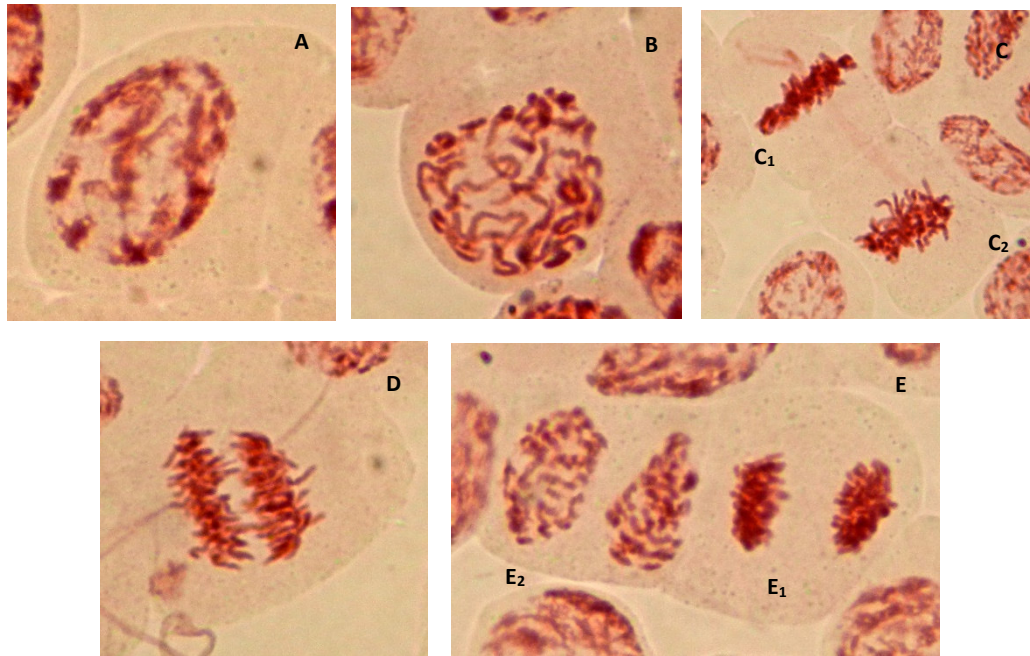


Figura 20. Fases de la mitosis en *P. peruviana*. **A.** Profase **B.** Transición a prometafase, obsérvese la fibra de cromatina más definida. **C.** Células en metafase, los cromosomas la célula C1 están en perfecto alineamiento con el huso mitótico, mientras que los cromosomas de la célula C2 se están preparando para la migración. **D.** Anafase **E.** Telofase y citocinesis, en la célula E1 la migración llegó a su fin, mientras que en E2 ya se inicia la descondensación para el retorno al ciclo celular. Se espera la formación del fragmoplasto para la regeneración de la pared celular, sin embargo, esta toma no captura ese evento.

6.3 Preparación citogenética:

A partir de ápices radiculares de se realizó la estandarización del protocolo citogenético, ajustando cada una de las etapas, resultando en lo siguiente:

Tabla 7. Protocolo citogenético estandarizado de *P. peruviana*

	Pasos	Reactivo químico	Concentración	Tiempo	Temperatura	Condición
Día 1	Pretatamiento	colchicina + DMSO	0,25% + 2%	1h 20min	T amb	Oscuridad
	Hipotonización	H ₂ O dd	---	1h	37°C	Luz
	Fijación	Farmer	3:1 (v/v)	24h	4°C	Oscuridad
Aislamiento de meristemo radicular						
	Hidrólisis	HCl	5N	10min	T amb	14 500rpm
	Enjuague	H ₂ O dd	---	2*5	T amb	
Día 2	Maceración 1	Targa	---	5-7min	T amb	Luz
	Maceración 2	Ác. Acético	45.00%	5min	T amb	Luz
	Tinción	Orceína lacto-acética	2%	40min	T amb	Luz

Para la estandarización del protocolo se tomó en cuenta lo realizado tanto por Rodríguez & Bueno (2006) como por Sánchez (2014), en ambos casos se trabajaron con muestras de aguaymanto colombiano.

Los pasos básicos considerados por Rodríguez & Bueno (2006) son pretratamiento, fijación, hidrólisis, coloración y montaje. El protocolo desarrollado en el presente trabajo presentó algunos pasos adicionales como aislamiento del meristemo radicular, eliminación de la caliptra, centrifugación y maceración doble. El objetivo de estos cuatro pasos adicionales fue asegurar la obtención de células meristemáticas que no estén en proceso de diferenciación, permitiendo así un mejor ablandamiento, tinción y dispersión de la muestra. De esta manera se pudo visualizar tanto las células que se encuentren en la periferia como la del núcleo

central de la raíz, como se observa en la Figura 21.

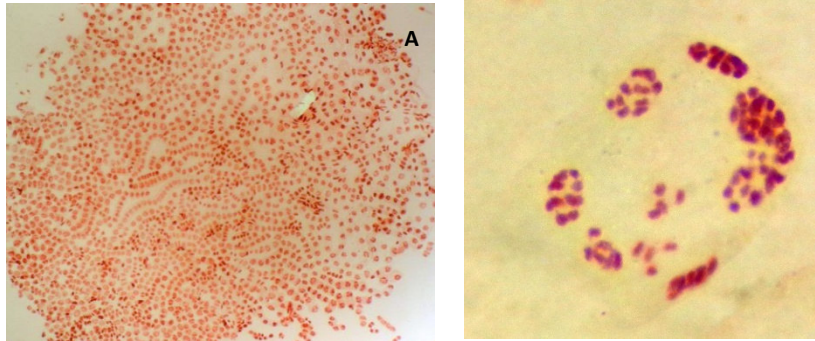


Figura 21. Evidencia de las ventajas y desventajas del protocolo estandarizado. A. Vista del campo a 10X, donde se observa buena dispersión de las células del meristemos y coloración total de las mismas. **B.** En algunas células en metafase, producto de la centrifugación, los cromosomas – en el interior de la célula – tienden a desordenarse.

6.4 Número cromosómico

A partir de 30 placas metafásicas por ecotipo ($t=30$), teñidas mediante tinción convencional (orceína lacto-acética 2%), se realizó el conteo del total de cromosomas presente en cada célula. Para todos los ecotipos se reporta células con $2n = 4x = 48$ - dato esperado según lo descrito por Rodríguez & Bueno (2006) Sánchez (2014) y Liberato et al. (2014) - sin embargo, el porcentaje de células que presentaron este número cromosómico no equivale al 100 % de las células contabilizadas. La razón, fue que: el ecotipo San Pablo (Figura 22), mostró un total de 18 placas metafásicas con $2n=4x=48$, equivalente al 60% de la muestra total analizada. El 40% restante se dividió entre números cromosómicos entre un rango de ± 4 cromosomas (del $2n=44$ al $2n=52$), siendo de estos números, el más frecuente $2n = 50$. Además, se reportó una célula con 82 cromosomas, valores que sobrepasan el nivel de ploidía esperado que podría justificarse por una ausencia de citocinesis (Figura 23).

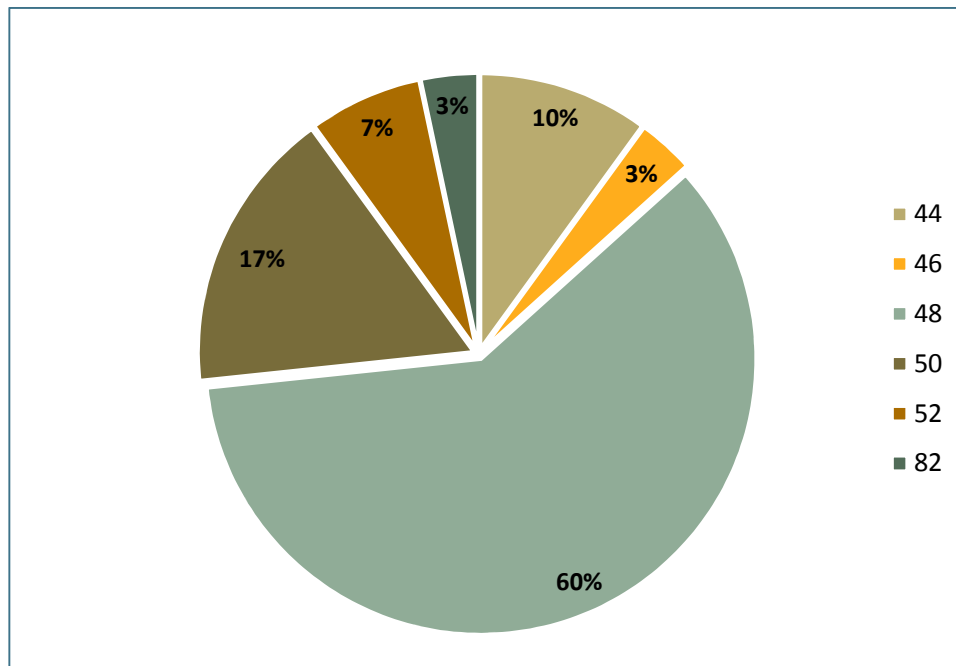


Figura 22. Frecuencia de números cromosómicos (2n) hallados en el ecotipo San Pablo.

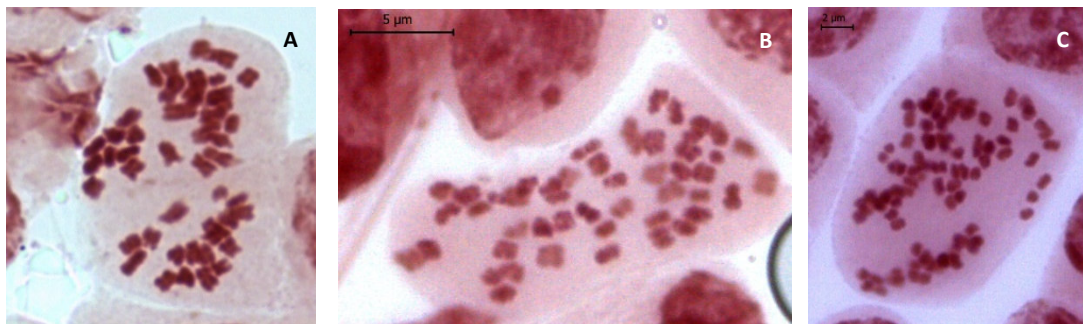


Figura 23. Algunos casos de aneuploidía somática reportada en el ecotipo San Pablo. **A.** placa metafásica con $2n=44$ cromosomas, **B.** placa con $2n=50$ cromosomas y **C.** célula conteniendo 82 cromosomas, nivel de ploidía elevado.

Con respecto al ecotipo Celendín, el 50% de las placas metafásicas analizadas ($t=30$) presentaron un número cromosómico de $2n = 4x = 48$, conforme a los esperado (Figura 24). El 50% restante, presenta variaciones numéricas tales como 24 cromosomas ($2n = 2x = 24$), que correspondería a una célula con complemento

diploide; sin embargo, este número ha sido un número ya reportado por Menzel (1951). Además, este ecotipo presentó células con 46, 50, 52 (números que coinciden con los también reportados para el ecotipo San Pablo) y 54 cromosomas, en bajos porcentajes (< 3%). Finalmente, se reportó una célula con niveles de ploidía elevados (80 cromosomas) (Figura 25).

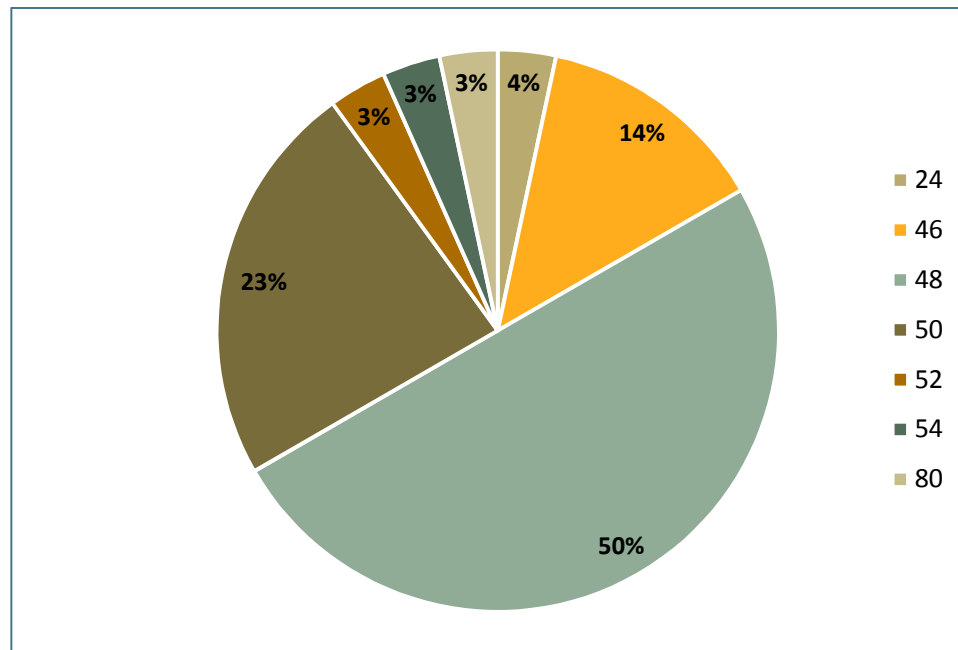


Figura 24. Frecuencia de números cromosómicos (2n) hallados para el ecotipo Celendín.

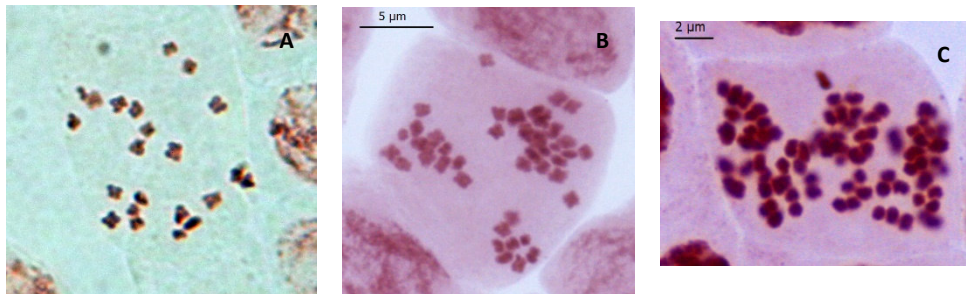


Figura 25. Algunos casos de aneuploidía somática reportados en el ecotipo Celendín. **A.** placa metafásica con $2n=24$, el menos número registrado. **B.** placa con $2n=46$ cromosomas y **C.** célula conteniendo 80 cromosomas, nivel de ploidía elevado.

Cajabamba, el tercer ecotipo en estudio, evidenció una situación particular debido a que, de las 30 placas analizadas para el conteo cromosómico, el número esperado que correspondería al ya citado $2n = 4x = 48$ alcanza solo un 27%, valor muy por debajo de los otros dos ecotipos mencionados (Figura 26). A este resultado se sumó que en esa misma proporción se encontraron células con $2n = 46$ cromosomas. El 46% restante de las placas analizadas correspondieron a números que se han presentado también en los anteriores ecotipos tales como 44, 50, 52 y 54. Los números de *novo* que presenta este ecotipo son 26 y 62; el primero de ellos un caso semejante al número diploide encontrado en Celendín ($2n = 2x = 24$) y el segundo un nivel de ploidía alto, caso que se dio en todos los ecotipos estudiados (Figura 27).

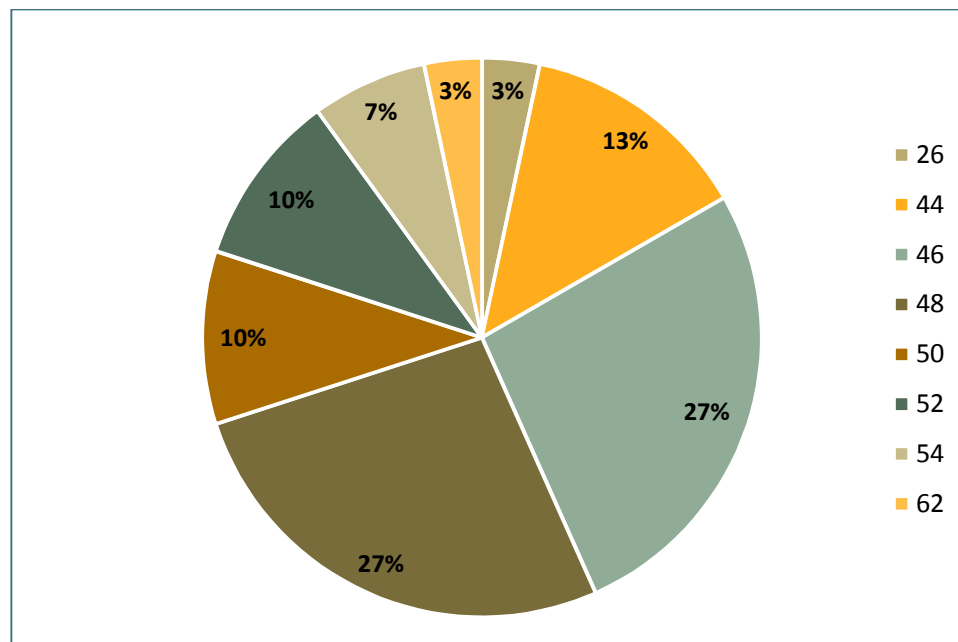


Figura 26. Frecuencia de números cromosómicos ($2n$) para el ecotipo Cajabamba.

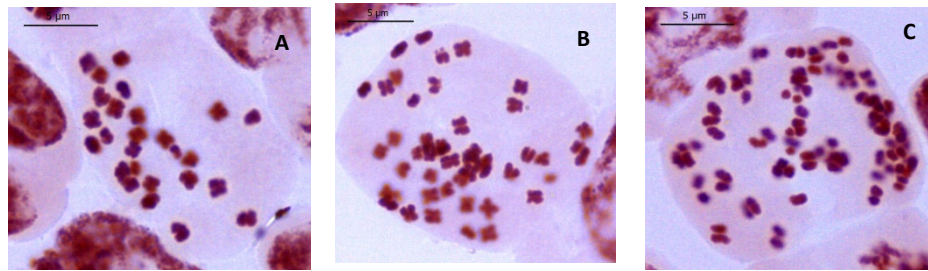


Figura 27. Algunos casos de aneuploidía somática reportada en el ecotipo Cajabamba. A. placa metafásica con $2n=26$, el menos número registrado. **B.** placa con $2n=46$ cromosomas **C.** célula conteniendo 62 cromosomas, nivel de ploidía elevado.

El análisis estadístico nos permite tener un panorama más completo como lo vemos en la Figura 28, mediante el cual es posible observar como primer punto que, todos los ecotipos en estudio engloban un rango común de números cromosómicos que va desde 46 hasta 52 cromosomas, siendo el pico de mayor frecuencia el número correspondiente a $2n = 4x = 48$. Para el caso de Cajabamba en particular se observa la presencia de dos picos con igual valor de frecuencia correspondientes a números cromosómicos de 46 y 48 cromosomas.

Asimismo, es posible reportar que cada ecotipo tiene casos distintos de ploidías mayores que van desde los 62 hasta los 82 cromosomas. La baja frecuencia de estos números cromosómicos permite asumir que se debe a posibles errores en la migración de los cromosomas durante la división celular o a un error del proceso de citocinesis.

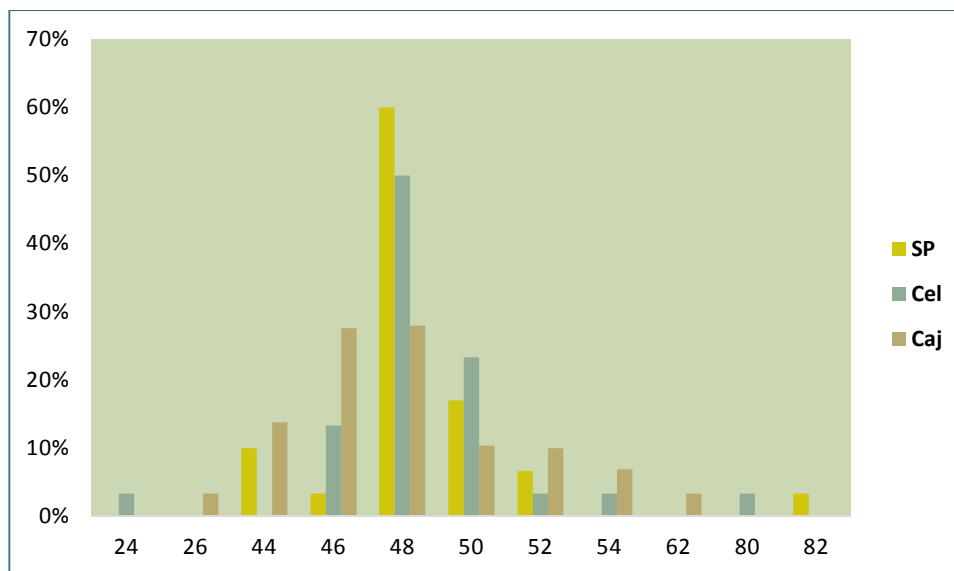


Figura 28. Histograma de frecuencia de los números cromosómicos para los tres ecotipos en estudio.

6.5 Morfología cromosómica

A partir de las 30 placas analizadas se seleccionaron 5 placas (SP 1-5; Cel 1-5 y Caj 1-5) para la medición de cromosomas (ver Anexo 2), a partir de microfotografías con escala de 5 μ m; empleando el software Ideokar.

Los resultados evidencian diferencias en cuanto a la morfología cromosómica entre los cariotipos de los ecotipos. El ecotipo San Pablo presentó la siguiente fórmula: $17m + 4sm + 3t$; el ecotipo Celendín $24m$ y el ecotipo Cajabamba $20m + 2sm + 2t$ (Tabla 8, Figura 29, 30 y 31). La variación intraespecífica se correlaciona con el hecho de que cada ecotipo provino de un lugar de origen distinto.

Con respecto a la posición del centrómero de cada uno de los 24 pares de cromosomas para un valor esperado de $2n = 48$, se reportó que la posición fue coincidente entre los ecotipos para 16 de los 24 pares: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 19, y 21; los cuales presentaron valores de Índice braquial

(Levan, 1964) en el rango de 1 a 1.7, por lo cual fueron clasificados como metacéntricos según la nomenclatura establecida por Levan (1964) (Tablas 8-11).

Tabla 8. Data correspondiente al valor de arm ratio (AR) y morfología cromosómica según Levan (1964) para los tres ecotipos de *P. peruviana*

Par cromosómico	San Pablo		Celendín		Cajabamba	
	AR prom	tipo	AR prom	tipo	AR prom	tipo
1A	1.78	sm	1.51	m	1.63	m
2A	1.47	m	1.45	m	1.43	m
3A	1.62	m	1.28	m	1.55	m
4A	1.46	m	1.27	m	1.61	m
5A	1.72	sm	1.23	m	1.44	m
6A	1.33	m	1.45	m	1.44	m
7A	1.46	m	1.25	m	1.38	m
8A	1.51	m	1.53	m	1.45	m
9A	1.48	m	1.28	m	1.39	m
10A	1.61	m	1.36	m	1.59	m
11A	1.51	m	1.56	m	1.37	m
12A	1.74	sm	1.50	m	1.52	m
13A	1.30	m	1.46	m	1.47	m
14A	1.26	m	1.30	m	1.61	m
15A	1.38	m	1.41	m	1.46	m
16A	1.25	m	1.27	m	1.39	m
17A	1.74	sm	1.41	m	1.87	sm
18A	1.25	m	1.52	m	1.33	m
19A	1.34	m	1.24	m	1.39	m
20A	1.43	t	1.31	m	1.30	m
21A	1.32	m	1.42	m	1.39	m
22A	1.31	t	1.38	m	1.75	sm
23A	1.62	m	1.34	m	Infinito	t
24A	Infinito	t	1.34	m	Infinito	t
Fórmula	17m + 4sm + 3t		24m		20m+ 2sm+2t	

Figura 29. Ecotipo San Pablo A. Cariotipo B. Idiograma elaborado a partir de la mejor placa metafásica obtenida (placa modelo).

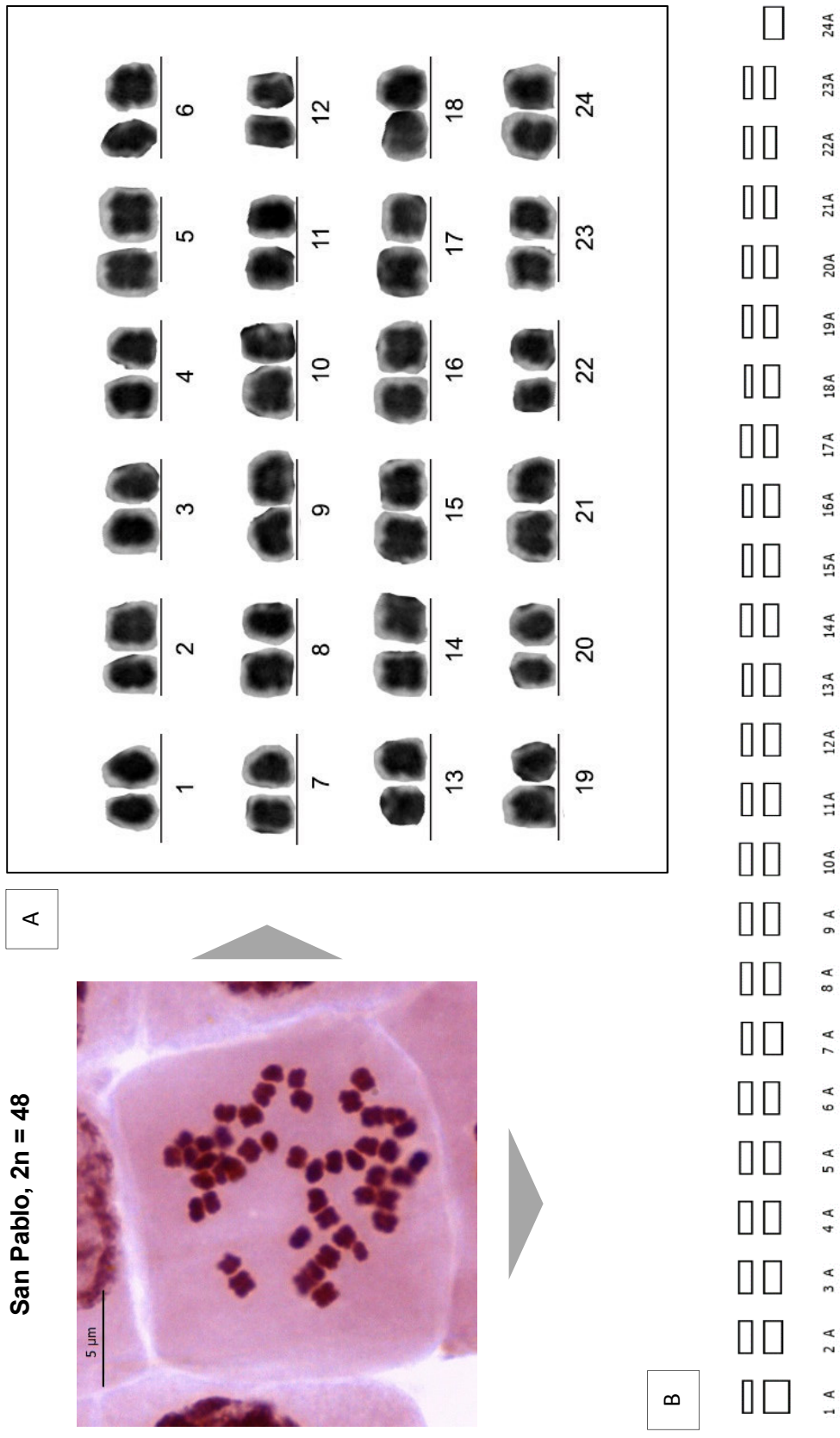
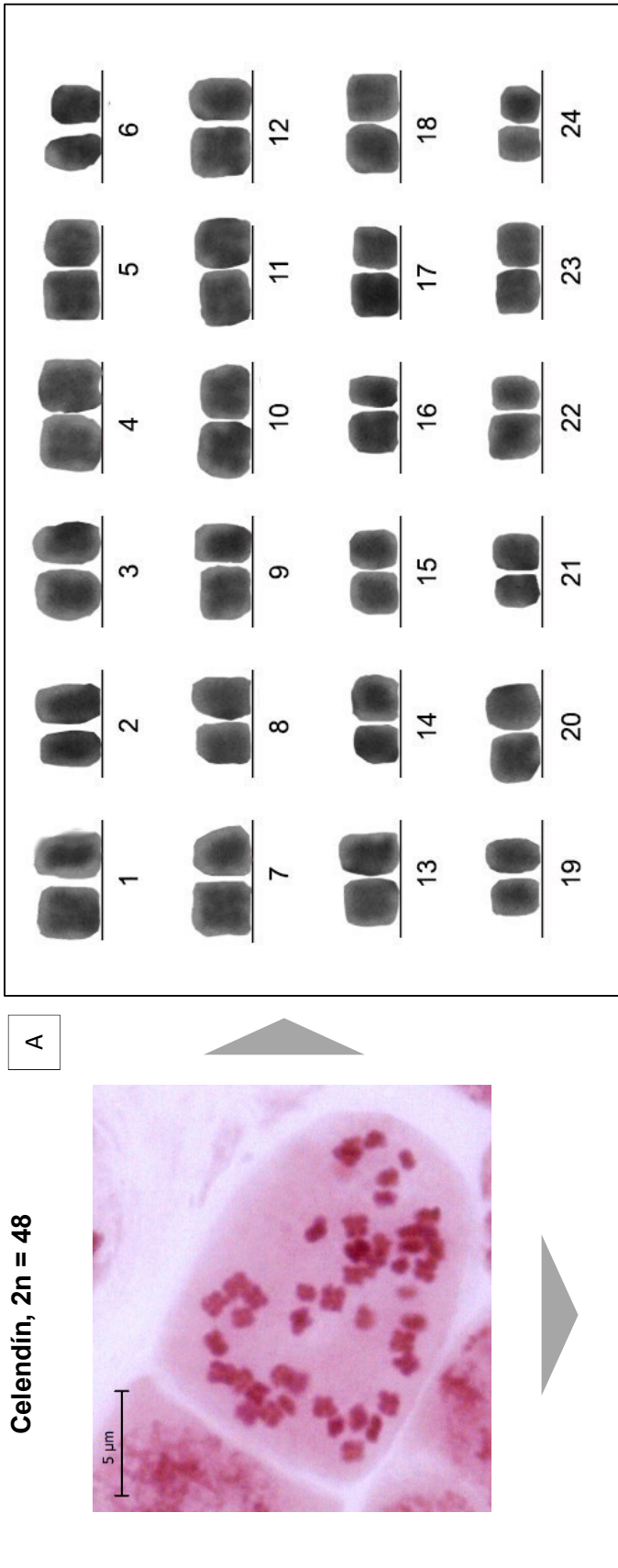


Tabla 9. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo San Pablo, obtenidos a partir del software Ideokar.

N° de cromosoma según par de homólogos (2n=48)		L	S	LC	PC	L (MH)	DE	S (MH)	DE	LC (MH)	DE	AR	DE	IC	DE	Tipo
1A	1A	0.84	0.35	1.19	1	0.89	0.05	0.37	0.02	1.26	0.06	2.45	0.03	0.29	0.00	sm
2A	2A	0.71	0.48	1.19	2	0.66	0.05	0.50	0.02	1.16	0.03	1.33	0.14	0.43	0.03	m
3A	3A	0.55	0.55	1.10	3	0.63	0.08	0.48	0.06	1.11	0.02	1.27	0.35	0.44	0.06	m
4A	4A	0.65	0.48	1.13	4	0.60	0.05	0.50	0.02	1.10	0.03	1.20	0.14	0.46	0.03	m
5A	5A	0.71	0.42	1.13	5	0.66	0.05	0.40	0.02	1.06	0.06	1.67	0.05	0.38	0.01	m
6A	6A	0.52	0.45	0.97	6	0.56	0.05	0.48	0.03	1.05	0.08	1.13	0.02	0.46	0.00	m
7A	7A	0.61	0.48	1.10	7	0.58	0.03	0.45	0.03	1.03	0.06	1.29	0.02	0.44	0.00	m
8A	8A	0.55	0.42	0.97	8	0.60	0.05	0.42	0.00	1.02	0.05	1.38	0.12	0.41	0.02	m
9A	9A	0.52	0.52	1.03	9	0.55	0.03	0.47	0.05	1.02	0.02	1.21	0.19	0.46	0.04	m
10A	10A	0.58	0.45	1.03	10	0.56	0.02	0.45	0.00	1.02	0.02	1.21	0.04	0.44	0.01	m
11A	11A	0.58	0.42	1.00	11	0.58	0.00	0.39	0.03	0.97	0.03	1.50	0.13	0.40	0.02	m
12A	12A	0.61	0.35	0.97	12	0.58	0.03	0.39	0.03	0.97	0.00	1.50	0.21	0.40	0.03	m

L: long. brazo largo, S: long. brazo corto, LC: Long total del cromosoma, PC: par cromosómico, L (MH): promedio de la long. brazo largo del par homólogo, S (MH): promedio de la long. brazo corto del par homólogo, AR: índice braquial, IC: índice centromérico, DE: desv. estándar.

Figura 30. Ecotipo Celendín A. Cariotipo B. Idiograma elaborado a partir de la mejor placa metafásica obtenida (placa modelo).



B

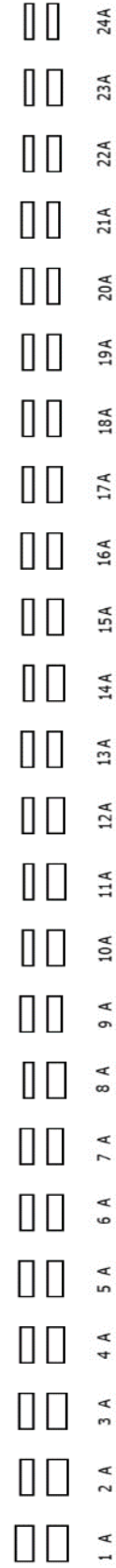


Tabla 10. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo Celendín, obtenidos a partir del software Ideokar.

N° de cromosoma según par de homólogos (2n=48)	L	S	LC	PC	L (MH)	DE	S (MH)	DE	LC (MH)	DE	AR	DE	IC	DE	Tipo
1A	0.61	0.54	1.15	1.00	0.61	0.00	0.54	0.00	1.15	0.00	1.12	0.00	0.47	0.00	m
1A	0.61	0.54	1.15												
2A	0.61	0.45	1.06	2.00	0.62	0.02	0.42	0.03	1.04	0.02	1.46	0.15	0.40	0.02	m
2A	0.64	0.38	1.03												
3A	0.61	0.42	1.03	3.00	0.59	0.02	0.45	0.03	1.04	0.02	1.29	0.13	0.43	0.02	m
3A	0.58	0.48	1.06												
4A	0.54	0.45	0.99	4.00	0.53	0.02	0.43	0.02	0.96	0.03	1.23	0.01	0.45	0.00	m
4A	0.51	0.42	0.93												
5A	0.51	0.48	0.99	5.00	0.50	0.02	0.45	0.03	0.95	0.05	1.07	0.04	0.47	0.01	m
5A	0.48	0.42	0.90												
6A	0.48	0.45	0.93	6.00	0.48	0.00	0.42	0.03	0.90	0.03	1.15	0.09	0.46	0.02	m
6A	0.48	0.38	0.87												
7A	0.51	0.42	0.93	7.00	0.48	0.03	0.42	0.00	0.90	0.03	1.15	0.08	0.46	0.02	m
7A	0.45	0.42	0.87												
8A	0.54	0.35	0.90	8.00	0.54	0.00	0.34	0.02	0.88	0.02	1.70	0.08	0.38	0.01	sm
8A	0.54	0.32	0.87												
9A	0.48	0.45	0.93	9.00	0.46	0.02	0.42	0.03	0.88	0.05	1.08	0.05	0.47	0.01	m
9A	0.45	0.38	0.83												
10A	0.51	0.38	0.90	10.00	0.51	0.00	0.37	0.02	0.88	0.02	1.45	0.06	0.42	0.01	m
10A	0.51	0.35	0.87												
11A	0.45	0.42	0.87	11.00	0.46	0.02	0.40	0.02	0.87	0.00	1.17	0.09	0.46	0.02	m
11A	0.48	0.38	0.87												
12A	0.51	0.35	0.87	12.00	0.51	0.00	0.35	0.00	0.87	0.00	1.45	0.00	0.41	0.00	m

L: long. brazo largo, S: long. brazo corto, LC: Long total del cromosoma, PC: par cromosómico, L (MH): promedio de la long. brazo largo del par homólogo, S (MH): promedio de la long. brazo largo del par homólogo, AR: índice braquial, IC: índice centromérico, DE: desv. estándar.

Figura 31. Ecotipo Cajabamba A. Cariotipo B. Idiograma elaborado a partir de la mejor placa metafásica obtenida (placa modelo).

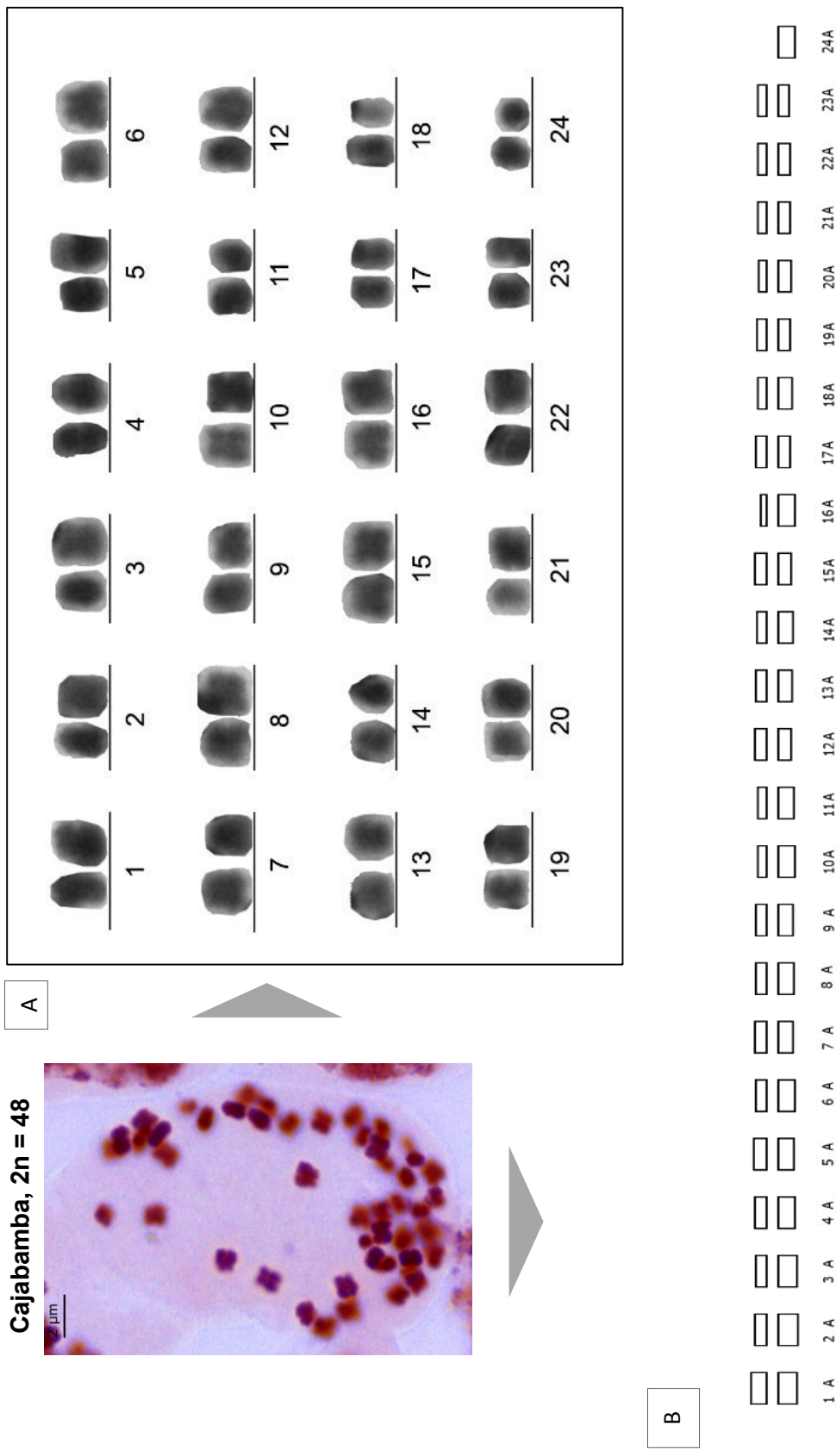


Tabla 11. Datos cuantitativos para la elaboración del cariotipo del ecotipo Cajabamba, obtenidos a partir del software Ideakar.

N° de cromosoma según par de homólogos (2n=48)	L	S	LC	PC	L (MH)	DE	S (MH)	DE	LC (MH)	DE	AR	DE	IC	DE	Tipo
1A	0.61	0.54	1.15	1.00	0.61	0.00	0.54	0.00	1.15	0.00	1.12	0.00	0.47	0.00	m
1A	0.61	0.54	1.15												
2A	0.61	0.45	1.06	2.00	0.62	0.02	0.42	0.03	1.04	0.02	1.46	0.15	0.40	0.02	m
2A	0.64	0.38	1.03												
3A	0.61	0.42	1.03	3.00	0.59	0.02	0.45	0.03	1.04	0.02	1.29	0.13	0.43	0.02	m
3A	0.58	0.48	1.06												
4A	0.54	0.45	0.99	4.00	0.53	0.02	0.43	0.02	0.96	0.03	1.23	0.01	0.45	0.00	m
4A	0.51	0.42	0.93												
5A	0.51	0.48	0.99	5.00	0.50	0.02	0.45	0.03	0.95	0.05	1.07	0.04	0.47	0.01	m
5A	0.48	0.42	0.90												
6A	0.48	0.45	0.93	6.00	0.48	0.00	0.42	0.03	0.90	0.03	1.15	0.09	0.46	0.02	m
6A	0.48	0.38	0.87												
7A	0.51	0.42	0.93	7.00	0.48	0.03	0.42	0.00	0.90	0.03	1.15	0.08	0.46	0.02	m
7A	0.45	0.42	0.87												
8A	0.54	0.35	0.90	8.00	0.54	0.00	0.34	0.02	0.88	0.02	1.70	0.08	0.38	0.01	sm
8A	0.54	0.32	0.87												
9A	0.48	0.45	0.93	9.00	0.46	0.02	0.42	0.03	0.88	0.05	1.08	0.05	0.47	0.01	m
9A	0.45	0.38	0.83												
10A	0.51	0.38	0.90	10.00	0.51	0.00	0.37	0.02	0.88	0.02	1.45	0.06	0.42	0.01	m
10A	0.51	0.35	0.87												
11A	0.45	0.42	0.87	11.00	0.46	0.02	0.40	0.02	0.87	0.00	1.17	0.09	0.46	0.02	m
11A	0.48	0.38	0.87												
12A	0.51	0.35	0.87	12.00	0.51	0.00	0.35	0.00	0.87	0.00	1.45	0.00	0.41	0.00	m

L: long. brazo largo, S: long. brazo corto, LC: Long total del cromosoma, PC: par cromosómico, L (MH): promedio de la long. brazo largo del par homólogo, S (MH): promedio de la long. brazo largo del par homólogo, AR: índice braquial, IC: índice centromérico, DE: desv. estándar.

Además de la información obtenida de cada par de homólogos, también se obtuvo información a partir de variables que describen el comportamiento del cariotipo en sí.

La Tabla 12, muestra los valores cuantitativos que describen un cariotipo; por ejemplo, el ecotipo San Pablo presenta una mayor longitud total del complemento haploide (HCL) en comparación con los otros dos ecotipos, siendo el rango de variación de 21.690 a 24.593 μm . Las variables que describen la simetría (%S) o asimetría (A) (Levistky 1931) del complemento revelaron que Celendín presenta un alto grado de simetría, representado por $S\% = 53.226$ y $A = 0.177$.

En contraposición a ello, los ecotipos San Pablo y Cajabamba se caracterizaron por presentar cariotipos asimétricos, presentando valores de simetría por debajo del 50% y con valores de asimetría intra e intercromosómica (A1 y A2) mayores que Celendín.

Esta información concuerda con lo obtenido en las fórmulas cariotípicas, pues la simetría de Celendín se refleja en una fórmula de 24 cromosomas metacéntricos; mientras que la asimetría de San Pablo y Cajabamba se ve influenciada por la presencia de cromosomas biarmados como metacéntricos y submetacéntricos, pero también por incluir cromosomas telocéntricos en el complemento. (Figura 29, 30 y 31).

Tabla 12. Variables morfológicas que describen el cariotipo por cada zona de colecta*.

Ecotipo	HCL	S%	A	A1	A2
San Pablo	24.593	41.390	0.286	0.382	0.222
Celendín	21.690	53.226	0.177	0.276	0.148
Cajabamba	21.783	44.645	0.255	0.360	0.180

*HCL: Longitud total del complemento haploide, S%: porcentaje de simetría, A: asimetría, A1: asimetría intracromosómica, A2: asimetría intercromosómica.

7. DISCUSION

7.1 Proceso de germinación:

La semilla representa un estado de deshidratación quiescente con una significativa reducción de las actividades metabólicas. Acorde con lo señalado por Kohashi Shibata et al. (2014) la germinación de semillas latentes se produce cuando encuentra las mejores condiciones ambientales para su desarrollo, tal como ocurrió con las semillas colectadas para los ecotipos, los cuales reaccionaron positivamente ante el tratamiento de calor y el ambiente de humedad en el que fueron colocadas.

Es así que el porcentaje de germinación es una variable que depende de factores extrínsecos como luz, temperatura y/o humedad, y madurez del fruto madre. Con respecto a esta última variable, cabe señalar que en un trabajo realizado por Criollo & Ibarra (1992) en *P. peruviana* reportaron que la madurez del fruto es una variable que influye directamente en el grado de madurez de la semilla y la probabilidad de germinación. En este estudio se evidenció que los frutos con mayor porcentaje de germinación eran los de color

amarillo, con valores que oscilan entre 72.6 a 73.4%, siendo las semillas con menor porcentaje de germinación aquellas que provenían de frutos aún en proceso de maduración y de color verde, con 41.6%.

Reforzando esta correlación entre el estado de maduración del fruto y la potencia germinativa de la semilla, Peña et. al (2010) cita a los autores de la Tabla 13.

Tabla 13. Datos reportados que relacionan los días de maduración con el porcentaje de germinación en *P. peruviana*, tomado de Peña et al. (2011).

Autor / Año	Lugar de cultivo	Días de maduración	% Germinación
Almanza & Espinoza (1995)	Tunja (Boyaca)	42 días	20 %
Mazorra et al. (2003)	Subia (Cundinamarca)	40 días	> 90 %
Criollo & Ibarra (1992)	Pasto (Nariño)	--	75 %

Es por ello que, para evitar la influencia de la maduración del fruto en el test de germinación, se seleccionaron frutos del estado 5 y 6 de maduración, según la norma colombiana ICONTEC (1999), los cuales son los mayores valores de la escala y en los cuales, el desarrollo metabólico y fisiológico de la semilla se ha completado.

De esta manera, contrastando nuestros resultados con los mencionados anteriormente, vemos que el valor de la potencia germinativa sobrepasa el 90 % para los tres ecotipos, lo cual concuerda a su vez con lo reportado por Rodríguez & Bueno (2006), quienes indicaron un porcentaje de germinación igual o superior al 94% tanto en condiciones *in vivo* como *in vitro* para ecotipos colombianos silvestres y cultivados.

Los altos valores del porcentaje concuerdan con lo esperado, puesto que *Physalis peruviana* es conocida tradicionalmente por ser una maleza; en otras palabras, que crece en sobremanera y sin necesidad de tener manejo agronómico. Tal como describe Dostert et. al. (2010), el hábitat de *Physalis* radica en los pisos altitudinales intermedios de los Andes, entre los 1500 y 3000 msnm. Esta característica es denominada por Rodríguez & Bueno (2006) como una “alta adaptabilidad y eficacia biológica”.

Si bien los tres ecotipos tienen una alta viabilidad, el comportamiento fisiológico - una vez recibido el estímulo necesario para la germinación- evidencia respuestas diferentes entre ellos, tal vez no con significancia estadística, pero si nos da la idea de una tendencia de comportamiento.

Tal es así que, Cajabamba posee mayor velocidad de germinación que los otros dos ecotipos, lo cual se refleja en la curva generada en la Figura 18 donde este mismo ecotipo, supera el 10% del total de semillas germinadas en menor tiempo; sin embargo, esta velocidad desacelera conforme pasan los días, sin llegar a alcanzar el 100% de la germinación total de semillas sembradas. Otro dato rescatable es que el ecotipo San Pablo tiene una velocidad de germinación intermedia que se mantiene a lo largo de todo el proceso de emergencia de la raíz, logrando el 100% de germinación total de semillas (ver Figura 19). El ecotipo Celendín por tanto presenta un comportamiento fisiológico intermedio entre los dos anteriores.

Los datos obtenidos en el presente estudio corresponden a un estudio preliminar de germinación en condiciones ambientales (ciudad de Lima), evaluándose de esta manera el comportamiento de las semillas en laboratorio. Es probable que, si se agregaran variables que influyan en el proceso de germinación, puedan revelarse

comportamientos fisiológicos por ecotipo con mayor claridad. Por ello, se recomienda realizar el test de germinación incluyendo variaciones de temperatura – como en el trabajo realizado por Calzada et al. (2014) determinando la temperatura mínima y máxima de germinación en cultivares de tomate de cáscara (*Physalis philadelphica*) - o de stress salino, tal como lo realizó Miranda et al. (2010) analizando el efecto del incremento de la concentración de NaCl en porcentaje de germinación de *P. peruviana*, reportando finalmente que se trata de una especie moderadamente tolerante al sodio durante su germinación.

Tal como lo hemos realizado, nuestros resultados son importantes para el inicio de la estandarización del protocolo citogenético, porque provee el material biológico para el estudio (meristemas radiculares); y a su vez, tanto el procedimiento como los resultados preliminares de la germinación brindan información que puede favorecer el trato agronómico de las semillas en campo, por parte de los agricultores.

7.2 Determinación de la hora mitótica

Este paso fue fundamental para la obtención de un alto número de células en metafase, a partir de las cuales se pudo realizar el análisis citogenético. El ciclo celular en sí, es más intenso en células no diferenciadas como las que están presentes en tejidos meristemáticos (Anamthawat-Jónsson 2003).

La hora de corte es reportada en diversos trabajos como Rodríguez & Bueno (2006), cuya hora de corte oscila entre las 9 y 9:30 am, mientras que Sánchez (2014) realiza los cortes en el rango de 1 y 2 pm. Liberato et al. (2014) muestra un mayor valor de IMF a las 12 del mediodía.

Estas diferencias son atribuibles en gran parte a factores ambientales, pues es durante el día que se da mayor intensidad lumínica, lo que facilita la activación del metabolismo de la planta en general, por ejemplo, la captación de carbohidratos que por procesos químicos genera el ATP necesario para cubrir el gasto energético que implica para la planta llevar a cabo la división celular (condensar el ADN, activar mecanismos de regulación, etc.) (Valencia & Rodríguez 2012).

7.3 Preparación citogenética

Los protocolos citogenéticos a partir de punta de raíz han sido estudiados para una amplia diversidad de especies de angiospermas, siendo la principal variación el agente inhibidor de huso mitótico empleado, así como su concentración y tiempo de exposición. Esto último, debido al tamaño de los cromosomas de la especie analizada.

Para el caso de *P. peruviana*, el protocolo referente es el desarrollado por Rodríguez & Bueno (2006), empleado en posteriores trabajos como Liberato et al. (2014) y Sánchez (2014), quienes emplearon una solución de colchicina 0.25% y dimetil-sulfóxido 2% – comúnmente conocido como DMSO. El efecto combinado de esta solución se basa en el hecho de que el DMSO modifica los fosfolípidos de membrana (Tanguy 1996), de esta manera se observó que la penetración de la colchicina en las células fue más asertiva, reduciendo el tiempo de exposición al reactivo.

En nuestro caso, la elección de colchicina en lugar de 8-hidroxiquinolina como agente para el pre-tratamiento se debió a que la colchicina cumple la doble función de inhibir el huso mitótico y de condensar los cromosomas en un grado más de lo

que ocurre naturalmente; además de su menor tiempo de exposición y menor grado de toxicidad durante su manipulación. Para potenciar la actividad de la 8-hidroquinolina (la cual contrae apenas los cromosomas metafásicos), Cuco et al. (2003) empleó cicloheximida que es un inhibidor de proteínas, el cual ingresa rápidamente a las células e inhibe la formación del huso, individualizando los cromosomas y aumentando su grado de condensación.

Como se mencionó, los pasos básicos de un protocolo han sido seguidos en la estandarización; sin embargo, se resalta los siguientes pasos adicionados.

El aislamiento del meristemo radicular fue necesario debido a que las raíces de *P. peruviana* presentan una caliptra densa y difícil de hidrolizar, lo cual generaba poca dispersión y baja tinción. A pesar de ser un paso meticuloso y delicado, fue de gran importancia en el resultado final observado (ver Figura 21A)

La centrifugación de las raíces durante la hidrólisis fue un paso novedoso debido a que no se tienen reportes de centrifugación con fines de ablandamiento o dispersión en la técnica de squash. El reporte más cercano que muestra la literatura es un ensayo realizado por Ota (1961) en células en división para desestabilizar la formación de la pared celular y observar su reensamblaje luego de la división.

Aunque el efecto de centrifugación durante la hidrólisis fue positivo debido a que, por el movimiento, el HCl hidrolizó de mejor manera la pared celular generando un tejido blando; sin embargo, es criticable la influencia que tiene en la dispersión de los cromosomas metafásicos; los cuales al estar individualizados tuvieron mayor libertad de movimiento en el citoplasma, observándose en la placa final algunos cromosomas sobrelapados o dispersados por grupos (ver Figura 22B)

La doble maceración se utiliza como un paso adicional que ayude a la hidrólisis y ablandamiento de la pared. En relación con lo mencionado, debe tenerse en cuenta que la técnica de squash es una técnica mecánica que puede causar impacto en las células y su contenido por el punteo del lápiz y la presión del squash, por ello debe guardarse un equilibrio entre el grado de hidrólisis y el grado de punteo y presión sobre la muestra.

Finalmente, aunque elaborar un protocolo citogenético es un proceso laborioso e intenso (Sánchez 2014) es un paso fundamental para caracterizar cultivos y obtener así, información básica como número cromosómico y nivel de ploidía. A partir de ese conocimiento se pueden diseñar y complementar el estudio con pruebas alternativas como, por ejemplo, el uso de citometría de flujo, microsatélites, entre otras.

7.4 Número cromosómico

El número cromosómico determinado con mayor frecuencia para los tres ecotipos en estudio coincide con el reportado en la literatura, basándonos en tres trabajos actuales realizados en Colombia – mayor productor de aguaymanto. Según la Tabla 14, este mismo número se reporta para los ecotipos Colombia y Kenia, con algunas variaciones.

Tabla 14. Referencia bibliográfica de caracterización citogenética de tres trabajos realizados en Colombia en los últimos 10 años. Autoría Y. Carbajal (2017).

Autor	Obtención de la muestra	Tipo de material (S/C)	Procedencia	Número cromosómico	Finalidad del estudio
Rodríguez & Bueno (2006)	Colecta in situ	Ecotipo silvestre	Colombia	2n=24	Diversidad Genética
	Colecta in situ	Ecotipo cultivado	Colombia	2n=32	Diversidad Genética
	Colecta in situ	Ecotipo cultivado	Kenia	2n=48	Diversidad Genética
Liberato et. al. (2014)	Banco de germ de Corpoica	Genotipos - Acc de CORPOICA	Colombia	2n=2x=24	Resistencia a <i>Fusarium</i>
	Banco de germ de Corpoica	Genotipos - Acc de CORPOICA	Colombia	2n=4x=48	Resistencia a <i>Fusarium</i>
Sánchez (2014)	Colección de la Univ. de Nariño	Ecotipo cultivado	Kenia	2n=4x=48	Parentales para cultivo de anteras
	Colección de la Univ. de Nariño	Ecotipo cultivado	Colombia	2n=4x=48	Parentales para cultivo de anteras
	Colección de la Univ. de Nariño	Ecotipo	Perú	2n = 44	Parentales para cultivo de anteras

Se observa además en la Tabla 14, que para el ecotipo Colombia se reportaron otros dos números distintos de 48, que son 24 y 32. En este caso la explicación dada por Rodríguez & Bueno (2006) es que posiblemente surgieron otros tipos de rearrreglos cromosómicos independientemente en cada ecotipo (silvestre y cultivado) como inversiones, aneuploidías, diploidías entre otros generando esta variación.

Pero, ¿por qué asumir que $2n = 48$ es un número estable para *P. peruviana*? Más allá de los tres reportes que mencionamos, la respuesta tiene una base evolutiva. Partiendo desde el hecho de que *P. peruviana* es una Solanaceae y como tal,

según los estudios citotaxonómicos realizados en la familia por Badr et al. (1997) sostiene que, de 45 especies estudiadas, 32 de ellas presentan un número básico de $x = 12$, lo cual representó a 8 de los 15 géneros estudiados. Otros números por debajo de este valor son $x = 7$ reportado para dos especies de *Petunia* y en el género *Nicotiana* también se reporta números básicos entre $x = 9$ a 11. Una de las principales causas de evolución cromosómica que ha moldeado a las angiospermas es el aumento de aneuploidías y la poliploidización (Stebbins 1974, citado por Ferreira de Melo et al. 2009). Estos procesos evolutivos se resumen en la Figura 32, donde se observa que la familia Solanaceae podría haber sido originada a partir de un taxón con número básico $x = 7$ u 8, y en el tiempo, ciclos de aneuploidías (incremento de cromosomas) fueron aumentando el número básico hasta llegar a un $x = 17$. En nuestro caso, nos interesó el punto en el que el número básico toma un valor de 12, a partir del cual, la especiación toma el camino de la poliploidización generando así números cromosómicos más elevados, entre ellos, el $2n = 4x = 48$, tetraploide, para *P. peruvianus*.

A esto se suma el trabajo de Menzel (1951) quien también realizó una revisión de 25 especies del género *Physalis* encontrando números de 24 y 48 cromosomas, sugiriendo que el número básico para el género es 12; de esta manera, aquellos materiales que presentan 48 cromosomas como los que hemos analizado, deberían ser teóricamente tetraploides. Este es un punto que discutiremos más adelante analizando la morfología de los cromosomas.

Continuando con nuestros resultados, encontramos que los tres ecotipos presentan números cromosómicos diferentes de 48 en menor frecuencia (<30%). Entre estos números tenemos los siguientes: 44, 46, 50 y 52 para San Pablo; 24, 46, 50, 52 y 54 para Celendín y 26, 44, 46, 48, 50, 52 y 54 para Cajabamba.

Aunque estos números escapan de alguna relación de multiplicidad con respecto al número estable ($2n=48$), algunos de ellos han sido reportados. Por ejemplo, Lagos (2006) reporta dotaciones cromosómicas de 24, 32, 36, 48, 52 y 54 cromosomas y a su vez Rodríguez & Bueno en el mismo año, reportan un ecotipo silvestre con 24 cromosomas.

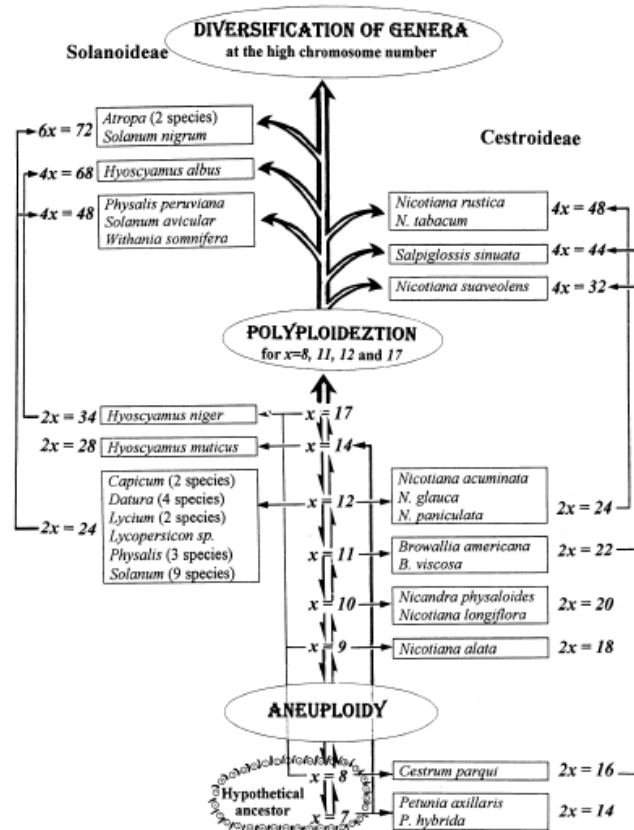


Figura 32. Propuesta del proceso evolutivo de las Solanáceas a partir de variaciones en el número cromosómico (Tomado de Badr et al. 1997).

Sin embargo, muy pocos autores reportan el nivel de aneuploidía somática que encontraron en el tejido a partir del cual realizan los conteos. Los números obtenidos en el presente estudio, no describen la dotación cromosómica final de un individuo, sino a células de un mismo tejido – en este caso meristemo radicular- que

corresponde a un futuro individuo, partiendo del hecho que cada semilla es un futuro descendiente.

Lo destacable en estos resultados es que hubo una notable diferenciación de los ecotipos en este punto, puesto que San Pablo es el ecotipo que presentó menor porcentaje de aneuploidía somática, seguido de Celendín que incluso presentó algunos números diferentes a los de San Pablo como 24 y 54. Cajabamba es un caso particular por dos razones: (1) presentó mayor variación de número en las células y (2) las células con $2n=48$ son tan frecuentes como aquellas que presentaron 46 cromosomas (ver Figura26).

La pregunta es este sentido sería, ¿qué importancia tiene la aneuploidía somática en el desarrollo del nuevo individuo? Y lo siguiente sería, ¿tiene este hecho alguna implicancia evolutiva, por ejemplo, para el ecotipo Cajabamba?

La aneuploidía, en sentido estricto, hace referencia a la ganancia o pérdida de uno o más cromosomas incluyendo ADN a partir de un complemento genómico estable (De Storme & Mason 2014). Para este mismo autor, la aneuploidía somática suele ocurrir con mayor frecuencia en plantas poliploides cultivadas y ocurre con mayor frecuencia en tejidos no diferenciados que darán origen a órganos generativos, como el caso del meristemo apical, anteras, etc.

En este punto, es importante recalcar que se analizaron aneuploidías en células de meristemo radicular – el cual fue aislado de la caliptra - proveniente de ecotipos cultivados de aguaymanto que presentan un $2n = 4x = 48$, asumiéndose tetraploidía para un número básico de $x=12$.

Justamente, el hecho de analizar células de tejido meristemático radicular fue lo particular en este punto. Ocurre que según Whitham & Slobodchikoff (1981), las

plantas y los animales presentan diferentes patrones de organización para desarrollarse; esta diferencia surge debido a que las plantas están conformadas por unidades repetitivas de células que compiten unas con otras: meristemas (por ejemplo, una planta de aguaymanto puede generar varios meristemas radiculares o apicales en su periodo de vida) mientras que los animales se desarrollan a partir de sistemas interdependientes, lo que impide que compitan.

En términos generales, existen dos tipos de meristemas: (1) meristemas apicales de raíz, que desarrollan la caliptra y además tres sistemas de tejido de la raíz y (2) meristemas apicales de yema y/o brote, que dan lugar a tallo, hojas y estructuras reproductivas. Además, el primer tipo de meristemo – el de raíz- tiene la particularidad de formarse a partir de un centro quiescente, mientras que el segundo tipo de meristemo, existen tres capas: L1, L2 y L3 (Salisbury & Ross 1994; Gilbert 2005).

Las células aneuploides halladas en el estudio, correspondieron a tejido meristemático de raíz; por lo cual su posible variación podría tener efecto en los tejidos que se formen a partir de la diferenciación de estas células en células más especializadas como tejido conductor entre otros. Este hecho ya ha sido reportado por Li (2017), manifestando que algunas células de los tejidos vasculares son conocidas por presentar pérdida de cromosomas, sin saber aun si esta pérdida es un proceso genéticamente coordinado o no. Estas mutaciones somáticas a baja escala podrían atravesar un periodo evolutivo individual (por individuo) si la planta madre es propagada de forma asexual, presentando posiblemente un cambio génico notorio a través del tiempo. Sin embargo, estos cambios en genes o cromosomas que ocurren en las células vegetativas podrían tener mayor éxito evolutivo si se originaran en células meristemáticas de yema y/o brote, debido a

que este tipo de meristemo presenta tres capas (L1, L2 y L3), las cuales tienen la capacidad de incorporar células entre ellas, dependiendo del plano de división. Es decir, una célula aneuploide en la capa L1, puede pasar a capa L2 o L3 y viceversa, lo que alteraría el fenotipo según Whitham & Slobodchikoff (1981). Se suma a ello que este tipo de meristemo puede generar una rama, con características diferentes, que por clonaje podría convertirse en una nueva planta descendiente y/o fijarse en la capa L2 que es la capa a partir de la cual se desarrolla el polen y pasar así a la línea germinal.

Un ejemplo de ello lo da Sánchez (2014), quien realizó cultivo *in vitro* a partir de anteras, obteniendo de 50 plantas, siete mixoploides, es decir que presentaban más de un número cromosómico en un rango desde 32 hasta 96 cromosomas. Este resultado si bien es cierto es influenciado por las posibles y conocidas variaciones que puede generar la técnica de cultivo *in vitro* en sí misma, también está relacionado a un cierto nivel de células aneuploides en la antera empleada para cultivo.

Cabe mencionar que según Li (2017) este cambio en el número cromosómico en células de raíces, pueden además ser inducidos por tratamientos químicos o factores ambientales. Es importante considerar este punto puesto que para el caso del ecotipo Cajabamba – el cual presentó mayor porcentaje de células aneuploides – la condición del lugar era completamente diferente en cuanto a temperatura, altitud y humedad debido a que se encontraba en el Valle de Condebamba a temperaturas más elevadas (25 °C aprox.) y además eran agricultores que no tenían semillas con origen certificado. Adicionalmente, es necesario indicar que fenotípicamente, las plantas del ecotipo Cajabamba eran de menor altura (40 cm

aprox.) y más precoces puesto que con 3 meses de haber sido sembradas ya producían fruto.

Finalmente debe tenerse en cuenta dos características observadas en aguaymanto: (1) la presencia de asociación somática entre los cromosomas durante profase y metafase (véase Figura 21B) podría causar una desigual segregación de los cromosomas durante la anafase. Nair & Ravindran (1994) mencionan la ocurrencia de este hecho en especies de orquídeas como *Vanilla planifolia*, así como también en maíz y trigo, explicando que estas uniones se deben a atracciones de la heterocromatina constitutiva, pudiendo ser de tipo “*side to side*” (por atracción de centrómeros) o “*end to end*” (por atracción de telómeros). (2) *P. peruviana* ha sido descrita como una especie con tipo de reproducción mixta, es decir que se comporta mayormente como alógama, pero también como autógama en menor grado, lo cual según Liberato et al. (2014) haría suponer que cruzamientos naturales podrían generar “dotaciones cromosómicas variables para la especie, incluso en materiales del mismo ecotipo”.

7.5 Morfología cromosómica

Si bien el número cromosómico observado de $2n=48$ para los tres ecotipos en estudio, coincide con el nivel de ploidía esperado de $2n=4x=48$, las diferencias fueron observadas a nivel de morfología cromosómica entre los cariotipos obtenidos para San Pablo, Celendín y Cajabamba.

En este sentido, es necesario recalcar que, a pesar de reportarse el número cromosómico esperado para un caso de tetraploidía en la especie, nosotros no podemos aún establecer un cariotipo a partir de grupos de homólogos de cuatro

cromosomas como se esperaría para una ploidía de este nivel, puesto que es necesario complementar la información morfológica de los cromosomas con la información de su estructura interna, lo cual se obtiene por bandeo cromosómico (sea bandas C, DAPI o CMA3). Es por ello, que al igual que lo reportado por Rodríguez & Bueno (2006) y Liberato et al. (2014), nosotros elaboramos un cariotipo a partir de pares de homólogos conformados por dos cromosomas. Además, tenemos el caso de San Pablo y Cajabamba, en los cuales, el número y tamaño de los cromosomas telocéntricos dificultó su agrupamiento. Pocos reportes se tienen acerca de la morfología cromosómica de *Physalis peruviana*; por ejemplo, Rodríguez & Bueno (2006) y Liberato et al. (2014) reportan en sus trabajos - además del número cromosómico- la morfología cromosómica de sus muestras.

Tabla 15. Resultados obtenidos en un estudio de diversidad citogenética de aguaymanto colombiano por Rodríguez & Bueno (2006).

Ecotipo	Número cromosómico	Grupos	Fórmula cromosómica
Silvestre	2n = 24	A y B	4m+6sm+2acr
Colombia	2n=32	A y B	5m+8sm+3acr
Kenia	2n=48	A y B	12m+9sm+3acr

En este trabajo, se resalta la presencia de cromosomas acrocéntricos en los tres ecotipos estudiados, que corresponden a un ecotipo silvestre colombiano, y dos ecotipos cultivados: Colombia y Kenia (Tabla 15). Comparando con los resultados obtenidos, la principal diferencia o contraste es la ausencia de cromosomas acrocéntricos en los tres ecotipos estudiados y la presencia de cromosomas telocéntricos en el complemento de dos ecotipos San Pablo y Cajabamba; sin embargo, es rescatable remarcar que tanto para Rodríguez & Bueno (2006) como para los ecotipos analizados en el presente trabajo, la presencia de cromosomas

biarmados (presencia de los brazos p y q) es común, siendo el ecotipo Kenia (ecotipo cultivado en Colombia) el que guarda mayor cercanía con los resultados obtenidos debido a que presenta un mayor número de cromosomas metacéntricos en el complemento.

Así mismo, se describe la morfología de los cromosomas en el trabajo realizado por Liberato et al. (2014), quienes a partir de siete genotipos - con respuesta diferencial a *Fusarium oxysporum* - realizaron un estudio citogenético, encontrándose lo siguiente (Tabla 16).

Tabla 16. Descripción de los siete genotipos trabajados por Liberato et al. (2014) procedentes de Colombia, Sur África, Polonia e India. Obsérvese al detalle el número y tipo de morfología cromosómica.

Nombre científico	Código accesión - Número genotipo	Procedencia	Respuesta de resistencia a <i>F. oxysporum</i> ²	Número cromosómico / ploidía ³	Número y tipo de morfología cromosómica ⁴	Contenido medio de ADN (pg) 2C/4C ⁵	Tamaño genoma (Mb) 1C ⁶
<i>P. peruviana</i>	09u047-1 ^{UNB}	Colombia (Boyacá)	Poco susceptible	48 / 2n = 4x	m = 12; sm = 7; st = 4; t = 1	8,12 ^a	1985,34
<i>P. peruviana</i>	09u216-6 ^{UN}	Colombia (Nariño)	Moderadamente susceptible	48 / 2n = 4x	m = 10; sm = 9; st = 4; t = 1	7,72 ^a	1887,54
	09u216-3 ^{UN}			48 / 2n = 4x	m = 10; sm = 9; st = 4; t = 1	7,96 ^a	1946,22
<i>P. peruviana</i>	09u274-1 ^N	Colombia (Cundinamarca)	Susceptible	48 / 2n = 4x	m = 9; sm = 10; st = 5; t = 0	5,77 ^b	1410,77
<i>P. peruviana</i>	09u279-1 ^C	Colombia (Nariño)	Resistente	48 / 2n = 4x	m = 10; sm = 7; st = 5; t = 2	8,04 ^a	1965,78
<i>P. peruviana</i>	09u288-2 ^{USDA}	Sur África	Susceptible	48 / 2n = 4x	m = 8; sm = 8; st = 7; t = 1	8,04 ^a	1965,78
<i>P. peruviana</i>	09u289-1 ^{USDA}	Polonia	Altamente susceptible	24 / 2n = 2x	ND	2,33 ^d	1139,37
<i>P. peruviana</i>	09u290-1 ^{USDA}	India	Altamente susceptible	48 / 2n = 4x	m = 13; sm = 4; st = 5; t = 2	7,90 ^a	1931,55

Para quienes, los cariotipos de *P. peruviana* presentan predominantemente cromosomas metacéntricos, submetacéntricos, subtelocéntricos y en menor proporción telocéntricos resaltándose que la diversidad de formas de cromosomas en un mismo complemento implica un alto grado de asimetría intercromosómica.

Estos resultados se acercan más a los obtenidos en el presente estudio; sin embargo, al igual que Rodríguez & Bueno (2006), difiere en la presencia de cromosomas subtelocéntricos, también conocidos como acrocéntricos (Levan, Fredga & Sandberg 1964).

Basándonos en la idea inicial, que muchos citogenetistas sostienen a lo largo de los años, acerca de que los cromosomas son una estructura dinámica en sí misma, actuando como una unidad independiente. Es por ello, que autores clásicos como Levitzky (1931), y modernos como Cheema & Pant (2013) y Furtado Nani et al. (2015) sostienen que los principales caminos por los cuales un cariotipo podría diferenciarse de otro son a partir de las siguientes características en orden de importancia: (1) número cromosómico base, (2) forma y tamaño relativo de los cromosomas de un mismo complemento, (3) número y tamaño de satélites y constricción secundaria, (4) tamaño absoluto de los cromosomas y (5) distribución de la heterocromatina y eucromatina.

Acorde con el punto número dos, la variabilidad en cuanto a la forma de los cromosomas que conforman un complemento nos lleva a relacionarlo con el grado de simetría del cariotipo.

Según los resultados mostrados en la Tabla 12, se reporta que únicamente el ecotipo Celendín muestra un mayor grado de simetría (>50%) mientras que los ecotipos San Pablo y Celendín presentan mayor valor de asimetría tanto intra (A1,

presencia de centrómeros terminales o subterminales) como intercromosómica (A2, variación de tamaño de los cromosomas). Esta diferencia se acentúa teniendo en cuenta que se trata de cultivos que pertenecen a hábitat diferentes.

En este sentido, no se tienen reportes de investigaciones con *P. peruviana* que hagan referencia a este tipo de variables; sin embargo, podemos tomar como referencia lo que sucede en otras especies de Solanaceae.

Chiarini et al. (2010), en un trabajo sobre caracterización de cariotipos de especies andinas de la subfamilia Solanoideae, sostiene que en la familia Solanaceae la mayoría de los cromosomas tienden a ser metacéntricos (m) o submetacéntricos (sm), generándose rangos de índice braquial que van desde 1,17 en *Atropa acuminata* hasta 2,78 en *Nicotiana acuminata*. Dentro de este rango se ubican los índices obtenidos para los cromosomas metacéntricos y submetacéntricos de los tres ecotipos analizados en el presente estudio, que en líneas generales van desde 1,23 hasta 1,78; para los telocéntricos el valor tiende al infinito. La presencia de cromosomas telocéntricos en la familia es reportado en pocas especies, tales como *Nicotiana plumbaginifolia* (Villa 1984); *Solanum muricatum* y *S. basendopogon*, (Bernardello & Anderson 1990).

Otro aspecto comparable es la longitud total del complemento haploide. Nuestros resultados muestran que el ecotipo San Pablo presenta mayor longitud del complemento (HCL), seguido de Cajabamba y Celendín respectivamente, con un rango de variación de 3 μm aproximadamente. Un rango mayor (HCL) lo obtuvo Teodoro – Pardo et. al. (2007) evaluando el polimorfismo cromosómico de tres recolectas de *Capsicum annuum* en tres provincias distintas de México. Comparando ambos casos (nuestros resultados en *P. peruviana* y los de Teodoro – Pardo et. al. (2007) en *C. annuum*) podemos atribuir las diferencias de HCL al

grado de condensación del cromosoma, influido por el estado en el cual es detenida la mitosis: prometafase o metafase propiamente dicha; y también por el efecto del uso de la colchicina sobre la condensación; sin embargo, es importante rescatar - como sostiene Teodoro – Pardo et. al. (2007) - que un mayor grado de compactación de los cromosomas no implica diferentes contenidos de ADN en una misma especie. Esto debido a que el empaquetamiento del ADN por brazo de cada cromosoma ya es un hecho predefinido antes de la condensación.

La simetría es una característica citada en muchos trabajos citogenéticos de especies tales como *Capsicum annuum* (Moscone et al. 2007, Teodoro – Pardo et. al. 2007, Rohami et. al. 2010) así como en la subfamilia Solanoideae (Chiarini et al. 2011). En contraste, Gómez Pulgarín et al. (2012) reporta un cariotipo asimétrico para dos materiales de *Solanum phureja*, pariente silvestre diploide de la papa cultivada.

Con respecto a *P. peruviana*, Liberato et al. (2014) y Rodríguez & Bueno (2006) no especifican índices que indiquen el valor de simetría de sus muestras; sin embargo, ambos trabajos muestran la composición de sus fórmulas cariotípicas, observándose la diversidad de formas de cromosomas en resultados obtenidos, lo que se interpreta como cariotipos asimétricos por la presencia de cromosomas acrocéntricos y telocéntricos respectivamente.

Acorde con Stebbins (1950) y Liberato et al. (2014), los cariotipos asimétricos presentan pasos evolutivos más avanzados que los que presentan simetría. Siendo así, podría asumirse que el ecotipo Celendín sería más primitivo debido a que presenta mayor simetría (TF=41.522%, %S=53.226, A=0.177) mientras que los ecotipos San Pablo (TF=37.374%, %S=41.390, A=0.286) y Cajabamba (TF=38.539%, %S=44.645, A=0.255) serían los más avanzados evolutivamente con

menor predominancia de metacéntricos y presencia de telocéntricos (ver Tabla 9); sin embargo, se requiere de más estudios para corroborar esto.

Una posible razón ante la presencia de telocéntricos en el complemento de los dos ecotipos mencionados, se refiere a que son producto de *misdivision* – divisiones transversales del centrómero de cromosomas normales, en lugar de las divisiones longitudinales; tendencia que suele ocurrir en cromosomas vegetales (Koo et al. 2015). Lo que significa que el origen de un cromosoma telocéntrico, parte de un cromosoma ya preformado y establecido, por tanto, este tipo de divisiones hace que la estructura y la estabilidad de un nuevo cromosoma dependa de su cinetocoro. Koo et. al. (2015) evaluando el comportamiento de telosomas (cromosomas telocéntricos) en trigo, sostiene que la estabilidad de este tipo de cromosomas se debe - además del cinetocoro – a la presencia de la proteína histona H3 específica de centrómero (CENH3). Un detalle importante a tener en cuenta es el rol que cumple la heterocromatina pericentromérica que flanquea el centrómero durante la división celular; para ello se recomienda realizar pruebas de bandeo C y/o DAPI o CMA3, que revelen el comportamiento de la heterocromatina por ecotipo. El patrón de bandeo a su vez nos permitiría conocer la presencia de cambios morfológicos internos de los cromosomas, revelando alguna modificación como inversiones, translocaciones o demás. Esta información es importante porque - en términos evolutivos - diferentes estudios han planteado el camino de diversificación que han seguido diversas especies de solanáceas a partir de variaciones en su cariotipo Wu & Tanksley (2010) a partir de la información brindada por marcadores ortólogos conservados de una copia (COSII) demostraron cambios estructurales en los cromosomas a ritmo moderado en comparación con otras familias de plantas: tomate y papa difieren por 6 inversiones, tomate y berenjena difieren por 24

inversiones y 5 translocaciones; mientras que tomate y ají se diferencian por 19 inversiones y 6 translocaciones.

Finalmente, los resultados obtenidos, coinciden con los trabajos realizados en donde se señala que *P. peruviana* está en proceso de evolución debido a que es – hoy en día – un cultivo que ha pasado de ser una planta silvestre a ser una planta cultivada en muy corto tiempo, por lo cual esta adaptación a nuevas condiciones genera cambios a diferentes niveles.

Con respecto al enfoque del estudio, las variables cuantitativas, tanto cromosómicas como cariotípicas demuestran ser útiles para la identificación de los ecotipos en estudio; razón por la cual el enfoque citogenético resulta ser una herramienta útil para la identificación de ecotipos.

8. CONCLUSIONES

- ❖ Los tres ecotipos San Pablo, Celendín y Cajabamba presentan un número cromosómico de $2n = 4x = 48$ cromosomas, acorde con el número esperado.
- ❖ Los tres ecotipos presentan un nivel de aneuploidia somática en tejido meristemático de raíz, siendo mayor en el caso de Cajabamba, seguido de Celendín y en menor grado, San Pablo.
- ❖ Se asume la tetraploidia en base al número de cromosomas encontrados.
- ❖ Los tres ecotipos presentan fórmulas cariotípicas que difieren entre sí, siendo la fórmula para San Pablo $17m + 4sm + 3t$, para Celendín $24m$ y para Cajabamba $20m + 2sm + 2t$.

9. RECOMENDACIONES

- ❖ Es necesario complementar la información obtenida con técnicas de bandeo tales como bandas C, DAPI o CMA3; que permitan describir la morfología interna de los cromosomas y así compararlo entre los ecotipos.
- ❖ Aguaymanto es un cultivo en proceso de evolución, donde el paso de silvestre a cultivado se está dando en estos momentos; por lo cual sería muy importante analizar muestras de poblaciones silvestres para complementar el enfoque de diversidad genética y generar información para posibles planes de mejoramiento.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acquaah, G. 2007. *Principles of Plant Genetics and Breeding*. Blackwell Pub.
- Anamthawat-Jónsson, K. 2003. "Preparation of chromosomes from plant leaf meristems for karyotype analysis and in situ hybridization." *Methods in Cell Science* 25-(3-4): 91-95.
- Araujo Z., G. 2009. "Todo aguaymanto." En: "Cultivo de Aguaymanto (*Physalis peruviana*) VI Parte".
- Badr, A., Khalifa S. F., Aboel-Atta A. I., & M. M. Abou-El-Enain. 1997. "Chromosomal criteria and taxonomic relationships in the Solanaceae." *Cytologia* 62-(2). 103-13.
- Bala, S. & R.C. Gupta. 2011. "Effect of secondary associations on meiosis, pollen fertility and pollen size in Cape gooseberry (*Physalis Peruviana* L.)." *Chromosome Botany* 6: 25-28.
- Battaglia, E. 1955. "Chromosome morphology and terminology." *International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics* 8-(1): 179-87.
- Bernardello, G., Stiefkens, L. & M.L. Las Peñas. 2008. Karyotype studies in *Grabowskia* and *Phrodus* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 275: 265-269.
- Bonilla B. M., Espinosa P. K., Posso T. A. M., Vásquez A. H. D. & J. E. Muñoz F. 2008. "Caracterización molecular de 43 accesiones de uchuva de seis departamentos de Colombia." *Acta Agronómica* 57-(2): 109-16.
- Brito, D. 2002. Producción de uvilla para exportación. Agroexportación de productos no tradicionales (p.10). Quito, Ecuador: Fundación Aliñambi.
- Carstensen B. K. 2014. "Caracterización molecular y criopreservación de tomate de cáscara (*Physalis Ixocarpa* Brot. Ex Horm.)." Universidad Autónoma Chapingo.
- Cheema, S.K., & M.R. Pant. 2013. "Karyotype analysis of seven cultivated varieties of *Capsicum Annuum* L." *Caryologia* 66-(1): 70-75.
- Chiarini, F. E., Moreno C. N., Barboza E. G. & G. Bernardello. 2011. "Karyotype characterization of *Andean Solanoideae* (Solanaceae)." *Caryologia* 63-(3): 278-91.

- Criollo E., H., & V. Ibarra C. 1992. "Germination of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under different degrees of maturity and storage times." *Acta Horticulturae* 310: 183–88.
- Cronquist, A. & W. R. Anderson. 1982. "An integrated system of classification of flowering plants." *Brittonia* 34-(2): 268.
- Cuco, S. M., Mondin M., Carneiro V. M. L. & M. L. R. Aguiar-Perecin. 2003. "Técnicas para a obtenção de preparações citológicas com alta frequência de metáfases mitóticas em plantas: *Passiflora* (Passifloraceae) e *Crotalaria* (Leguminosae)." *Acta Botanica Brasílica* 17-(3): 363–70.
- Darwin, C. 1965. "*On the Origin of Species*". Edited by Anibal Froucé. Madrid, España.
- Daunay, M. C., Dooijeweert V. W., Maggioni L. & E. Lipman. 2006. *Report of a Working Group on Solanaceae*. 63 p. Rome, Italy.
- De Storme, Nico & A. Mason. 2014. "Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance." *Current Plant Biology* 1 (August): 10–33.
- Dostert, N., Roque J., Cano A., La Torre M. I., Weigend M. & F. Luebert. 2012. *Hoja botánica: "Aguaymanto" Physalis peruviana* L. Lima, Perú.
- Dyer, A. F. 1979. *Investigating chromosomes*. Great Britain.
- Feldman, M., Mello-Sampayo T., & Sears E. R. 1966. "Somatic association in *Triticum aestivum*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 56 (4):1192–99.
- Ferrer-Pereira, H. E., Alcorcés de Guerra. N. C. & J. R. Méndez-Natera. 2007. "Determinación del ciclo mitótico de dos cultivares de *Gossypium hirsutum* L. y dos ecotipos de *Gossypium barbadense* L." *Acta Biol. Par.* 36 (3–4):121–49.
- Ferreira de Melo, C. A. 2009. "Estudo citogenético e molecular em nove espécies do gênero *Solanum* L. (Solanaceae A. Juss)." Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal Rural de Pernambuco.

- Fischer, G., Miranda D., Piedrahita W. & J. Romero. 2005. *Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.)*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Sede Bogotá.
- Fischer, G., Almanza-Merchán P. J., & D. Miranda. 2014. "Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana L.*)" *Revista Brasileira de Fruticultura* 36 (1).
- Furtado N. T., Teixeira M. A., De Oliveira B. F., Barbosa S., Calvelli B. J. & L. Chamma D. 2015. "Variation of karyotype and nuclear DNA content among four species of *Plectranthus L. Héritier, 1788 (Lamiaceae)* from Brazil." *Comparative Cytogenetics* 9(4): 549–63.
- Gilbert, S. F. 2005. *Biología Del Desarrollo*. Edited by Panamericana. 7th ed. Buenos Aires.
- GIZ (Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit). 2011. "Diagnóstico de la cadena de valor del aguaymanto en la región Cajamarca" Cajamarca, Perú.
- Gómez P., T.; Ortiz., J. B.; Tuirán, R.; Galindo, L. F., Arango I. & J. G. Morales. 2012. "Caracterización Citogenética de Cinco Genotipos de Papa Criolla, *Solanum Phureja* (Juz. et Buk.)" *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 65 (1):6379–87. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/30764>.
- González M., R. M. & Rojas M., A. E. 2014. "La relevancia evolutiva de los ecotipos". *Revista Elementos* 21 (95): 49–54.
- Heslop-Harrison, J. S. Pat, & T. Schwarzacher. 2011. "Organisation of the plant genome in chromosomes." *The Plant Journal* 66 (1):18–33.
- ICONTEC (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación). 1999. NTC 4580. Frutas frescas: Uchuva. Especificaciones. 15 p. Colombia.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual). 2010. (en línea). "La protección de las nuevas variedades vegetales en el Perú". Disponible en: <http://servicio.indecopi.gob.pe/portalcopi/archivos/docs/eventos/7-2010-1/IIAP-DIN-VV.pdf>. Revisado: mayo 2017.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). 2013. (en línea). "Resutados Definitivos IV Censo Nacional Agropecuario 2012". Lima, Perú. Disponible en:

- <http://www.agrorural.gob.pe/dmdocuments/resultados.pdf>. Revisado: junio 2015.
- INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). 2009. *Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación Perú*. Edited by Manuel Becerra Gallardo, Roger Sigüeñas Saavedra. Lima, Perú.
- Kohashi S., J., Uscanga M., E., García E., A., & P. Yáñez J. 2014. “Temperaturas cardinales y velocidad de germinación en cultivares de tomate de cáscara.” *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8: (1451-1458).
- Koo, D. H., Sehgal S. K., Friebe, B. & B. S. Gill. 2015. “Structure and stability of telocentric chromosomes in wheat.” *PLOS ONE* 10 (9).
- Lacadena, J. R. 1999. *Genética General : Conceptos Fundamentales*. Editorial Síntesis, Madrid.
- Lagos, T., Criollo H., Paredes, O., Mora, A. & F. Vallejo. 2005. “Estudio de la biología floral de la uchuva (*Physalis peruviana* L.).” *Revista de Ciencias Agrícolas* 22 (1 y 2):11.
- Lagos, T. 2006. Comportamiento citogenético de *Physalis peruviana*. En: Biología reproductiva, citogenética, diversidad genética y heterosis en parentales de uvilla o uchuva *Physalis peruviana* L. Tesis de grado para optar al título de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.
- Legge, A. P. 1974. “Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L.” *Journal of the Royal Horticultural Society* 99 (7):310–14.
- Levan, A., Fredga K., & A. A. Sandberg. 1964. “Nomenclature for centromeric position on chromosomes.” *Hereditas* 52(2) :201–20.
- Levitsky G., A. 1931. The karyotype in systematics. *Bull. Appl. Bot. Gen. Pl. Breed.* 27: 220–240.
- Li, X. Q. 2017. *Somatic Genome Variation in Animals, Plants, and Microorganisms*. Wiley-Blackwell , New Jersey, USA.
- Liberato, S., Sánchez B., E., Argüelles C., J., González A., C., Núñez, V. & Luz S. Barrero M. 2014. “Citogenética de genotipos de uchuva *Physalis peruviana* L. y *Physalis floridana* Rydb. con respuesta diferencial a *Fusarium oxysporum*.” 2014. *Corpoica*.

Ciencia Y Tecnología Agropecuaria 15 (1): 51–61.

Lopes de Souza, C. 2013. (en línea). “Aula 4: Sistemas reproductivos das plantas cultivadas e suas relações com o melhoramento”. Piracicaba, Brasil. Disponible en: http://www.esalq.usp.br/departamentos/lgn/lgn0313/iog/Aula04Sistemas_Reprodutivos.pdf. Revisado: Julio 2016.

Madriñan P., Carlos. 2010. “Caracterización morfológica de accesiones de *Physalis peruviana* L. del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira”. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira.

Mazorra, M. F., Quintana, A. P., Miranda D., Fischer G. & M. Chaparro D. V. 2006. “Anatomic aspects of formation and growth of the cape gooseberry fruit *Physalis Peruviana* (Solanaceae).” *Acta Biológica Colombiana* 11:69–81.

Menzel, M. Y. 1951. “The Cytotaxonomy and Genetics of *Physalis*.” *Proceedings of the American Philosophical Society* 95 (2): 132-183.

MINAM (Ministerio del Ambiente). 2012. “Glosario de términos para la formulación de Proyectos Ambientales”. Lima, Perú.

Miranda, D., Ulrichs C. & G. Fischer. 2010. “Imbibition and percentage of germination of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) seeds under NaCl stress.” *Agronomía Colombiana* 28 (1):29–35.

Mirzaghaderi, G. & K. Marzangi. 2015. “IdeoKar: An ideogram constructing and karyotype analyzing software.” *Caryologia* 68 (1):31–35.

Moncada M. 2004. Influencia del abonamiento orgánico y químico en tres ecotipos de tomatillo (*Physalis peruviana* L.) en las localidades de San Juan y Asunción - Cajamarca. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Cajamarca.

Moscone, Eduardo A. 1989. “Karyotype analyses in three Patagonian and S. Andean Endemic Genera of *Nicotianeae* (Solanaceae).” *Plant Systematics and Evolution* 166 (1–2):31–39.

- Mudry, M. D. & M. J. Bressa. 2014. "Citogenética - Guía de trabajos prácticos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Mulato-Brito, J., Peña-Lomelí, A., Sahagún-Castellanos, J. & C. Villanueva V. 2007. "Self-Compatibility inheritance in tomatillo (*Physalis Ixocarpa* Brot.)" 67:17–24.
- Nair, R.R. & P. N. Ravindran. 1994. "Somatic association of chromosomes and other mitotic abnormalities in *Vanilla Planifolia* (Andrews)." *Caryologia* 47 (1): 65–73.
- Naumova, N., Imakaev M., Fudenberg G., Zhan, Y., Lajoie, Bryan R., Mirny, L. A. & J. Dekker. 2013. "Organization of the mitotic chromosome." *Science* 342 (6161): 948–53.
- Otto, S. P. 2007. "The evolutionary consequences of polyploidy." *Cell* 131 (3): 452–62.
- Pássaro, Carolina P. 2015. "*Physalis peruviana* L: Fruta andina para el mundo". CYTED: Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. 2015. CORPOICA. Colombia.
- Paszko, B. 2006. "A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices". *Plant Systematics and Evolution* 258 (1–2):39–48. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0389-2>.
- Peña, J. F., Ayala, J. D., Fischer, G., Cháves, B., Cárdenas-Hernández, J. F. & P. J. Almanza. 2011. "Relaciones semilla-fruto en tres ecotipos de uchuva (*Physalis Peruviana* L.)." *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 4 (1):43–54.
- Peña L., A. & F. Márquez S. 1990. Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(71-72): 84-88.
- Peruzzi, L. & H. E. Eroğlu. 2013. "Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure?" *Comparative Cytogenetics* 7 (1): 1–9.
- Poggio, L. & C. Naranjo. 2004. "Citogenética." En *Biotecnología Y Mejoramiento Vegetal*, INTA - ArgenBIO, p 69–79.
- Poggio, L., Espert, S. M. & R. H. Fortunato. 2008. "Citogenética evolutiva en leguminosas americanas." *Rodriguésia* 59(3): 423-433.

- Portal Frutícola. 2016. (en línea). "Colombia desarrolla las primeras dos variedades comerciales de uchuva". Disponible en:
<https://dev.portalfruticola.com/noticias/2016/11/21/colombia-desarrolla-las-primeras-dos-variedades-comerciales-uchuva/>. Revisado: agosto 2017.
- Potapova, T. & G. Gorbsky. 2017. "The consequences of chromosome segregation errors in mitosis and meiosis." *Biology* 6 (1):12.
- PROMPERU (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo) . 2017. (en línea). "SIICEX:: Reportes de Productos de Biocomercio". Disponible en:
<http://www.siicex.gob.pe/siicex/apb/ReporteProducto.aspx?psector=1025&preporte=prodempr&pvalor=331080>. Revisado: julio 2017.
- Puente, L. A., Pinto-Muñoz, C. A., Castro, E. S. & M. Cortés. 2011. "*Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review." *Food Research International* 44 (7): 1733–40.
- Quispe M., A., Callacondo, D., Rojas, J., Zavala, D., Posso, M. & A. Vaisberg. 2009. "Actividad citotóxica de *Physalis peruviana* (Aguaymanto) en cultivos celulares de adenocarcinoma colorectal, próstata y leucemia mieloide crónica." *Revista de Gastroenterología Del Perú* 29 (3): 239–46.
- Rodríguez C., Nohra & M. L. Bueno A. 2006. "Estudio de la diversidad citogenética de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae)." *Acta Biológica Colombiana* 11 (2): 75–85.
- Romero Z., C. 1986. "A new method for estimating karyotype asymmetry." *Taxon* 35 (3):526.
- Salisbury, Frank B. y C. W. Ross. 1994. *Fisiología de Las Plantas*. Paraninfo.
- Sánchez, H. 2006. Evaluación agronómica de seis ecotipos de tomatillo (*Physalis peruviana*) para su adaptación en tres pisos ecológicos de la cuenca alta del Llaucano. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Sánchez, A. & S. Sánchez T. 2010. "Mapa de pisos altitudinales." Gobierno Regional de Cajamarca.

- Sánchez B., Patricia E. 2014. "Nivel de ploidía de plantas de uchuva provenientes de cultivo de anteras." Tesis para optar el título de Magíster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia.
- Santana, G. & A. Angarita. 1997. "Regeneración adventicia de somaclones de uchuva (*Physalis peruviana*)." *Agronomía Colombiana* 14 (1): 59–65.
- Santilli, J. 2009. "A agrobiodiversidade e o acesso aos recursos fitogenéticos: regime jurídico internacional e nacional." En *Agrobiodiversidade e direitos dos agricultores*, Editora Peirópolis, p. 519.
- Schreiber, F. 2012. *Estudio de prefactibilidad para la producción y comercialización de aguaymanto (Physalis peruviana L.) en condiciones de valles andinos*. Editado por Sierra Exportadora. Lima, Perú.
- Sholto, J. 1967. Royal gardens of the children of the sun. *Gardeners Chronicle*. 162(7): 22.
- Sierra Exportadora. 2014. (en línea). "Sierra Exportadora y el Gobierno Regional de Tacna instalaron parcelas experimentales para masificar el cultivo de aguaymanto". Disponible en: <https://www.sierraexportadora.gob.pe/2014/10/01/sierra-exportadora-y-el-gobierno-regional-de-tacna-instalan-parcelas-experimentales-para-masificar-el-cultivo-de-aguaymanto-en-la-sierra-tacnena/>. Revisado: Agosto 2015.
- Sierra Exportadora. 2017. (en línea). "Aguaymanto": Ficha Aguaymanto. Disponible en: <http://www.sierraexportadora.gob.pe/wp-content/uploads/2017/01/FICHA-AGUAYMANTO-final.pdf>. Revisado: Febrero 2017.
- Singh, Ram J. 2002. *Plant Cytogenetics*. 3rd edition. USA.
- Soltis, P. S., D Blaine Marchant, Yves Van de Peer & Douglas E Soltis. 2015. "Polyploidy and Genome Evolution in Plants." *Current Opinion in Genetics & Development* 35 (December):119–25. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2015.11.003>.
- Stebbins, G. 1950. "Evolutionary Trends I: The Karyotype." In *Variation and Evolution in Plant*, New York, p. 442–472.
- Suni, M. L., Cano A. & G. Vadillo. 2001. "Ensayos preliminares de germinación en *Puya Raimondii* Harms (Bromeliaceae)." *Revista Peruana de Biología* 8 (1): 53–59.

- Tanguy A., M. 1996. Techniques of Inducing Polyploidy. En Techniques of Plant Cytogenetics. New York: Science Publishers.
- Teodoro-Pardo, C.V. De, García-Velázquez, A. & T. Corona-Torres. 2007. "Polimorfismo cromosómico en *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) en recolectas de Puebla, Morelos y Querétaro, México." *Agrociencia* 41 (8): 873–81.
- Thomás, J. P. & S. M. Sepúlveda. 2015. "Recursos genéticos y mejoramiento de *Physalis Peruviana* L." En *Physalis Peruviana L.: Fruta andina para el mundo*, editado por Catarina Pedro Pássaro Carvalho, CORPOICA. Colombia.
- Turesson, G. 1931. "The geographical distribution of the alpine ecotype of some eurasiatic plants". *Hereditas* 15 (3): 329–46.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2012. (en línea). "Plants profile for *Physalis peruviana* (peruvian groundcherry)". Disponible en: <https://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=PHPE4>. Revisado: Mayo 2015.
- Vadillo, G., Suni, M. & A. Cano. 2004. "Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae)". *Revista Peruana de Biología* 11 (1):71–78.
- Valencia R., J. C. & N. Rodríguez C. 2012. "Estimación de la duración del ciclo celular y estandarización del protocolo citogenético en *Guadua Angustifolia* Kunth Var. *Angustifolia* (Bambusoideae, Poaceae)". *Revista. Investigación Universidad Quindío*. 23 (2):81–91.
- Villa A., 1984 — The chromosome idiogram of *Nicotiana plumbaginifolia*. *Genética*, 64: 145-148.
- Villamizar, F., Ramírez, A. & M. 1993. Menes. Estudio de la caracterización física, morfológica y fisiológica poscosecha de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agrodesarrollo* 4(1-2):305-320.
- Ward, L. I., Tang, J., Veerakone, S., Quinn, B. D., Harper, S. J., Delmiglio, C. & G. R. G. Clover. 2010. "First Report of *Potato Spindle Tuber Viroid* in cape gooseberry (*Physalis Peruviana*) in New Zealand." *Plant Disease* 94 (4): 479–479.
- Whitham, T. G. & C. N. Slobodchikoff. 1981. "Evolution by individuals, plant-herbivore interactions, and mosaics of genetic variability: the adaptive significance of somatic

mutations in plants.” *Oecologia* 49 (3):287–92.

Wu, F. & S. D. Tanksley. 2010. “Chromosomal evolution in the plant family Solanaceae.” *BMC Genomics* 11 (1):182.

Zamudio, F.; Chacon, I.; & F. Guerra. 2002. Importancia de la fuente de semilla en el mejoramiento genético forestal. En *Estrategia de mejoramiento del género Populus en Chile*. Universidad de Talca. Chile. 152 pp.

Zschau, B. 2009. “Informativo INIA Raihuen - *Physalis peruviana* L.: Evaluación del potencial de adaptación en la Región Del Maule”. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile.

ANEXOS

ANEXO 1. Materiales:

A. Material de vidrio y plástico:

- Láminas
- Laminillas
- Pipetas Pasteur de punta media
- Frascos de vidrio color caramelo 50 ml y 100 ml.
- Viales
- Lunas de reloj
- Placas Petri
- Probetas de 100 ml
- Pipetas de 10 ml
- Matraz
- Embudo
- Tubos eppendorf de 1,5 ml.
- Propipetas
- Rack
- Bagueta
- Criobox

B. Reactivos

- Ácido acético glacial
- Ácido acético al 50%
- Ácido láctico
- Ácido clorhídrico
- Etanol absoluto
- Orceína
- Agua destilada
- Colchicina
- 8 – hidroxiquinoleína
- Aceite de Inmersión
- Alcohol de 70°
- Ácido cítrico
- Celulasa
- Pectinasa
- Entellan

C. Equipos

- Microcentrífuga (Eppendorf)
- Microscopio óptico (Leica)
- Balanza electrónica (Hinotek)
- Refrigeradora (Coldex)
- Computadora (LG)
- Cámara digital (Nikon)

D. Otros

- Papel filtro
- Papel lente
- Pinzas quirúrgicas
- Papel toalla
- Guantes quirúrgicos
- Mascarillas

ANEXO 2. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo San Pablo

SP_1: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideakar

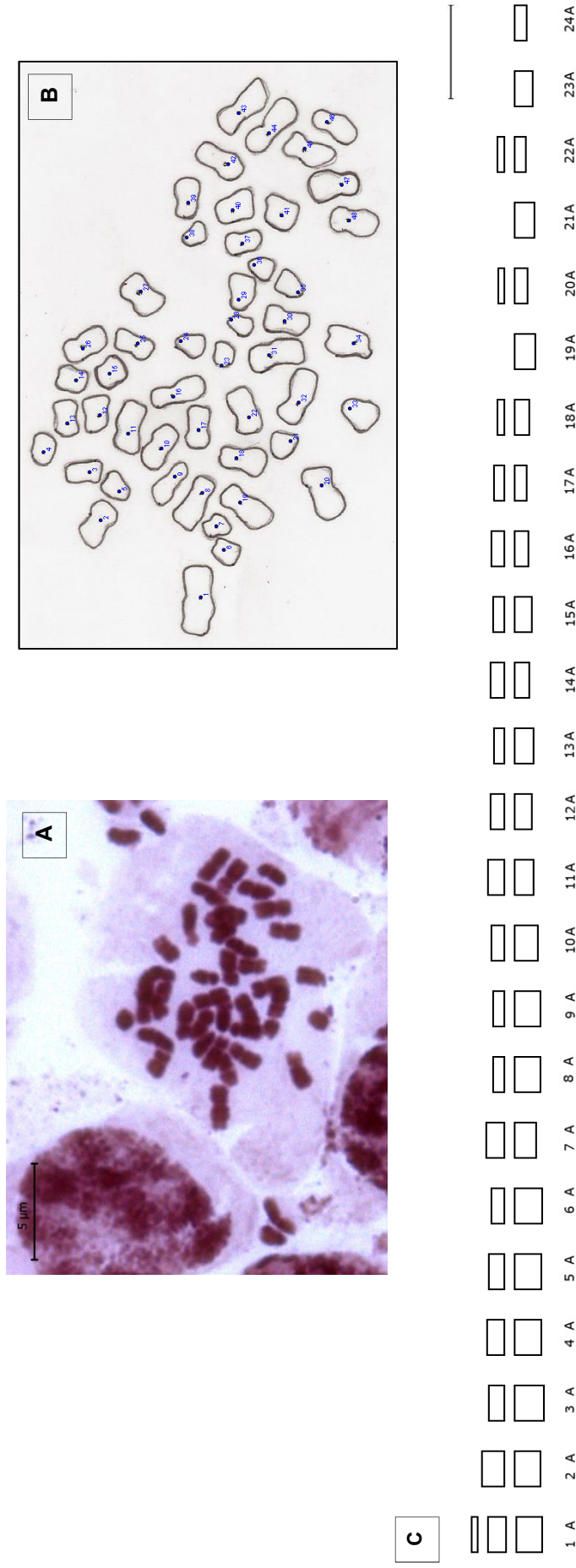


Figura 33. A. Placa metafásica SP_1. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm.

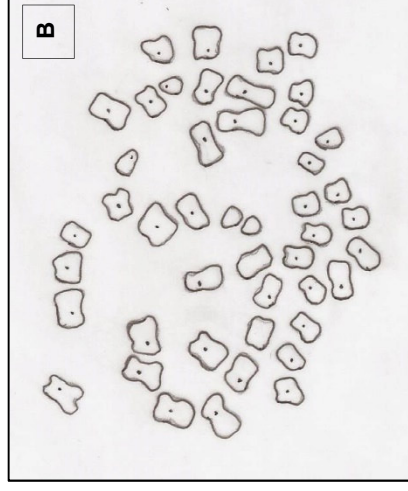
Tabla 17. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
31.435	24.806	0.324	0.420	0.326

Tabla 18. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	1.161	0.065	0.919	0.048	2.081	0.113	1.286	0.004	0.442	0.001	m
2A	1.048	0.016	0.903	0.000	1.952	0.016	1.143	0.018	0.463	0.004	m
3A	1.161	0.129	0.661	0.048	1.823	0.081	1.800	0.325	0.365	0.043	sm
4A	1.065	0.032	0.726	0.048	1.790	0.081	1.500	0.054	0.405	0.009	m
5A	1.065	0.032	0.661	0.016	1.726	0.016	1.650	0.088	0.383	0.013	m
6A	1.113	0.113	0.565	0.048	1.677	0.065	2.000	0.372	0.338	0.042	sm
7A	0.887	0.048	0.758	0.048	1.645	0.000	1.174	0.139	0.461	0.029	m
8A	1.032	0.000	0.500	0.016	1.532	0.016	2.133	0.067	0.326	0.007	sm
9A	1.048	0.048	0.484	0.065	1.532	0.016	2.133	0.396	0.315	0.039	sm
10A	0.952	0.016	0.565	0.016	1.516	0.032	1.706	0.020	0.372	0.003	sm
11A	0.790	0.048	0.694	0.016	1.484	0.032	1.143	0.096	0.468	0.021	m
12A	0.726	0.016	0.581	0.000	1.306	0.016	1.222	0.028	0.445	0.005	m
13A	0.790	0.016	0.468	0.016	1.258	0.032	1.714	0.024	0.372	0.003	sm
14A	0.710	0.097	0.500	0.016	1.210	0.081	1.467	0.240	0.416	0.041	m
15A	0.613	0.065	0.581	0.032	1.194	0.097	1.056	0.053	0.488	0.012	m
16A	0.597	0.048	0.548	0.000	1.145	0.048	1.059	0.088	0.480	0.020	m
17A	0.532	0.016	0.468	0.016	1.000	0.032	1.143	0.005	0.468	0.001	m
18A	0.629	0.016	0.339	0.016	0.968	0.000	1.900	0.136	0.350	0.017	sm
19A	0.839	0.032	0.000	0.000	0.839	0.032	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
20A	0.548	0.032	0.290	0.000	0.839	0.032	1.889	0.111	0.347	0.013	sm
21A	0.823	0.081	0.000	0.000	0.823	0.081	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
22A	0.484	0.032	0.339	0.016	0.823	0.016	1.500	0.164	0.412	0.028	m
23A	0.758	0.016	0.000	0.000	0.758	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.516	0.000	0.000	0.000	0.516	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

SP_2: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar



C

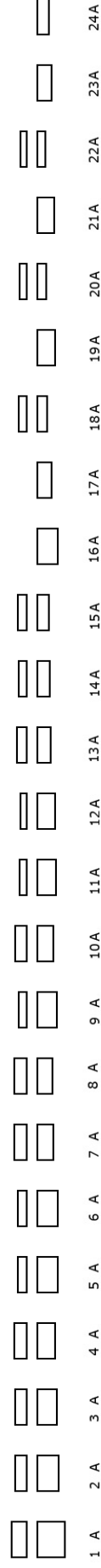


Figura 34. A. Placa metafásica SP_2. B. Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. C. Idiograma, escala 5 μm .

Tabla 19. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
23.392	28.571	0.386	0.485	0.290

Tabla 20. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	1.067	0.016	0.605	0.064	1.672	0.048	1.737	0.214	0.361	0.028	sm
2A	0.828	0.159	0.494	0.016	1.322	0.175	1.733	0.269	0.379	0.038	sm
3A	0.764	0.064	0.478	0.064	1.242	0.000	1.600	0.353	0.385	0.051	m
4A	0.701	0.127	0.525	0.048	1.226	0.080	1.375	0.367	0.433	0.067	m
5A	0.812	0.048	0.398	0.048	1.210	0.096	2.083	0.127	0.328	0.014	sm
6A	0.653	0.048	0.525	0.016	1.178	0.032	1.250	0.129	0.447	0.026	m
7A	0.796	0.127	0.382	0.000	1.178	0.127	2.083	0.333	0.328	0.035	sm
8A	0.621	0.016	0.525	0.016	1.146	0.000	1.188	0.066	0.458	0.014	m
9A	0.653	0.016	0.478	0.000	1.131	0.016	1.333	0.033	0.423	0.006	m
10A	0.764	0.032	0.350	0.032	1.115	0.064	2.182	0.108	0.314	0.011	sm
11A	0.748	0.048	0.318	0.032	1.067	0.016	2.300	0.389	0.299	0.034	sm
12A	0.717	0.048	0.303	0.016	1.019	0.032	2.444	0.283	0.298	0.025	sm
13A	0.557	0.016	0.430	0.016	0.987	0.000	1.308	0.085	0.435	0.016	m
14A	0.525	0.016	0.350	0.000	0.876	0.016	1.455	0.045	0.400	0.007	m
15A	0.494	0.016	0.382	0.000	0.876	0.016	1.250	0.042	0.437	0.008	m
16A	0.812	0.048	0.000	0.000	0.812	0.048	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
17A	0.573	0.127	0.207	0.207	0.780	0.080	3.000	NeuN	0.241	0.241	sm
18A	0.414	0.032	0.350	0.000	0.764	0.032	1.182	0.091	0.459	0.019	m
19A	0.382	0.000	0.334	0.016	0.717	0.016	1.200	0.055	0.466	0.012	m
20A	0.701	0.064	0.000	0.000	0.701	0.064	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
21A	0.669	0.032	0.000	0.000	0.669	0.032	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
22A	0.350	0.032	0.303	0.016	0.653	0.016	1.222	0.167	0.464	0.036	m
23A	0.573	0.000	0.000	0.000	0.573	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.478	0.000	0.000	0.000	0.478	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

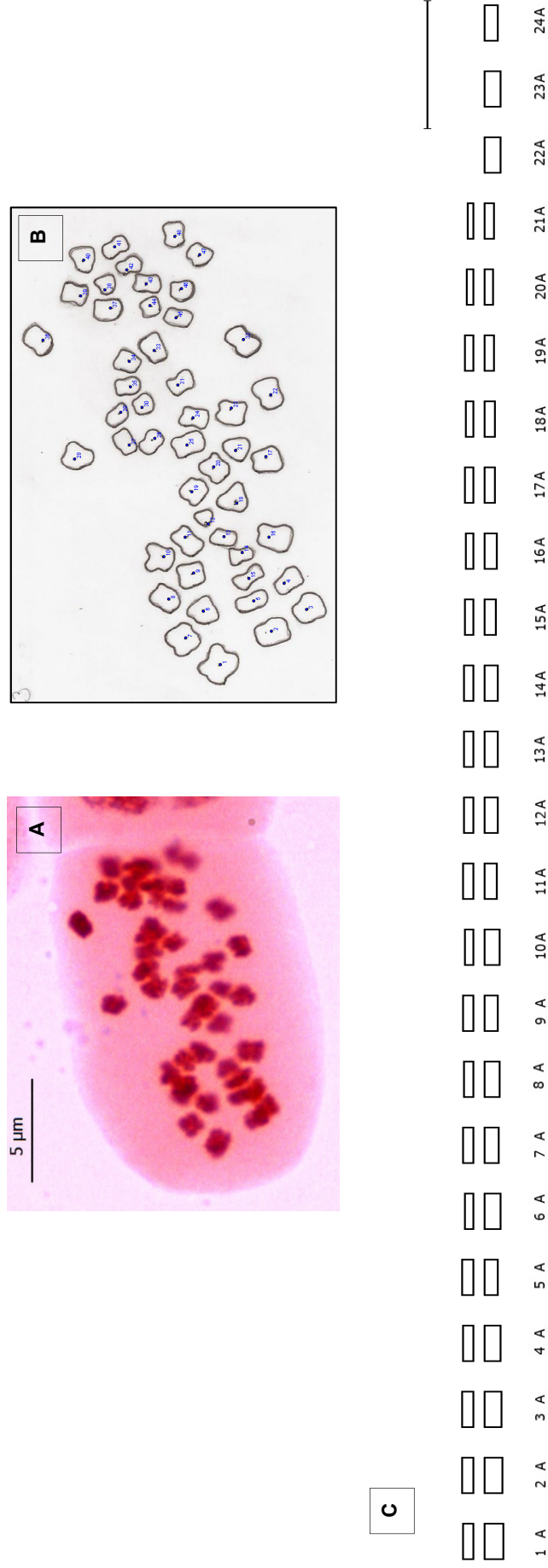


Figura 35. A. Placa metafásica SP_3. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μ m.

Tabla 21. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
20.849	46.479	0.254	0.346	0.200

Tabla 22. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.705	0.032	0.433	0.016	1.138	0.016	1.692	0.135	0.381	0.019	m
2A	0.673	0.032	0.465	0.016	1.138	0.048	1.500	0.019	0.409	0.003	m
3A	0.641	0.032	0.465	0.016	1.106	0.048	1.429	0.021	0.420	0.004	m
4A	0.625	0.080	0.433	0.016	1.058	0.096	1.462	0.132	0.411	0.022	m
5A	0.625	0.048	0.369	0.016	0.994	0.032	1.727	0.205	0.372	0.028	sm
6A	0.513	0.000	0.465	0.016	0.978	0.016	1.143	0.038	0.475	0.009	m
7A	0.561	0.016	0.417	0.000	0.978	0.016	1.308	0.038	0.426	0.007	m
8A	0.577	0.032	0.385	0.032	0.962	0.064	1.500	0.042	0.400	0.007	m
9A	0.577	0.064	0.369	0.016	0.945	0.080	1.636	0.106	0.391	0.016	m
10A	0.513	0.000	0.433	0.016	0.945	0.016	1.231	0.044	0.457	0.009	m
11A	0.497	0.048	0.433	0.016	0.929	0.032	1.154	0.154	0.467	0.033	m
12A	0.529	0.016	0.401	0.016	0.929	0.000	1.333	0.093	0.431	0.017	m
13A	0.529	0.048	0.385	0.000	0.913	0.048	1.333	0.125	0.422	0.022	m
14A	0.513	0.032	0.401	0.016	0.913	0.016	1.333	0.131	0.439	0.025	m
15A	0.481	0.032	0.321	0.032	0.801	0.000	1.500	0.253	0.400	0.040	m
16A	0.449	0.032	0.353	0.000	0.801	0.032	1.273	0.091	0.441	0.018	m
17A	0.417	0.032	0.353	0.000	0.769	0.032	1.182	0.091	0.459	0.019	m
18A	0.433	0.016	0.321	0.064	0.753	0.080	1.300	0.229	0.421	0.040	m
19A	0.385	0.032	0.353	0.000	0.737	0.032	1.091	0.091	0.479	0.021	m
20A	0.385	0.064	0.256	0.032	0.641	0.032	1.500	0.444	0.404	0.070	m
21A	0.353	0.000	0.288	0.000	0.641	0.000	1.222	0.000	0.450	0.000	m
22A	0.625	0.016	0.000	0.000	0.625	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
23A	0.625	0.016	0.000	0.000	0.625	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.529	0.016	0.000	0.000	0.529	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

SP_4: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

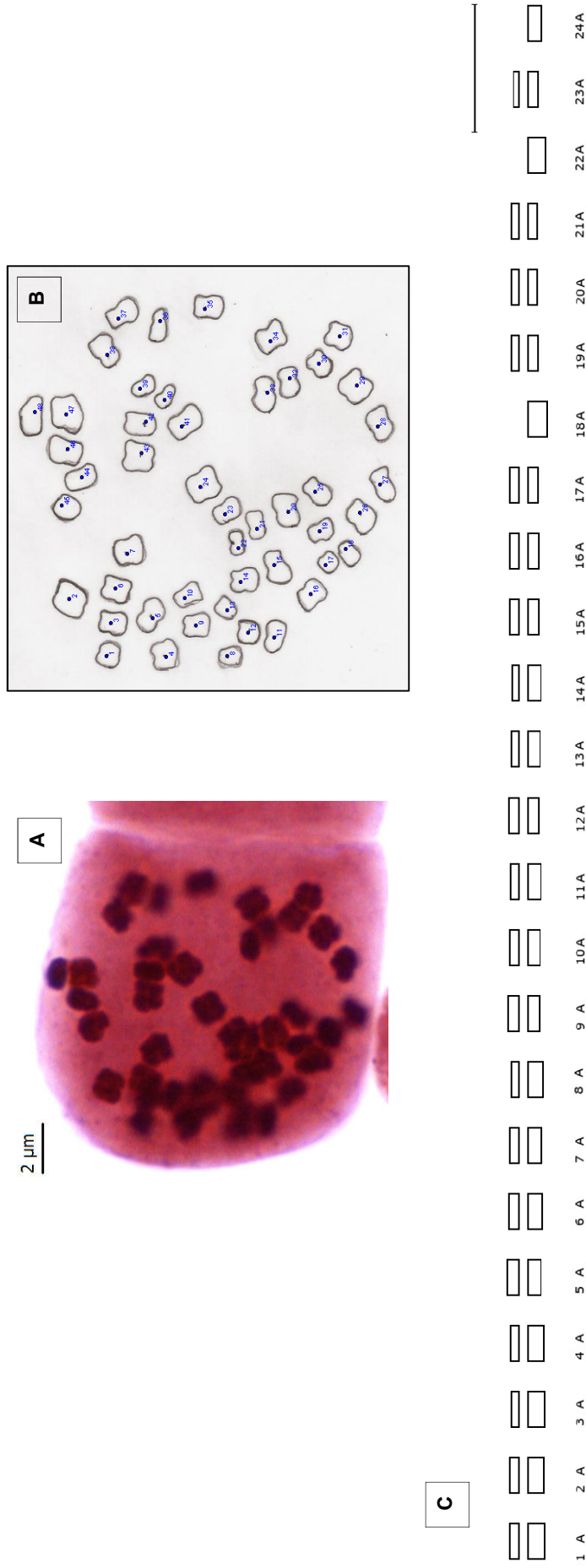


Figura 36. A. Placa metafásica SP_4. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm .

Tabla 23. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
24.274	53.247	0.261	0.349	0.151

Tabla 24. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.790	0.016	0.452	0.000	1.242	0.016	1.714	0.036	0.364	0.005	sm
2A	0.742	0.065	0.468	0.016	1.210	0.048	1.643	0.193	0.388	0.029	m
3A	0.790	0.016	0.403	0.016	1.194	0.032	2.000	0.038	0.338	0.004	sm
4A	0.758	0.016	0.435	0.016	1.194	0.032	1.769	0.027	0.365	0.004	sm
5A	0.629	0.016	0.548	0.032	1.177	0.048	1.118	0.038	0.465	0.008	m
6A	0.677	0.032	0.484	0.000	1.161	0.032	1.400	0.067	0.417	0.012	m
7A	0.661	0.016	0.468	0.048	1.129	0.065	1.429	0.113	0.413	0.019	m
8A	0.726	0.016	0.403	0.016	1.129	0.032	1.833	0.032	0.357	0.004	sm
9A	0.565	0.048	0.532	0.016	1.097	0.065	1.063	0.059	0.486	0.014	m
10A	0.581	0.032	0.468	0.048	1.048	0.081	1.286	0.060	0.445	0.012	m
11A	0.613	0.065	0.419	0.000	1.032	0.065	1.462	0.154	0.408	0.025	m
12A	0.629	0.048	0.371	0.016	1.000	0.065	1.727	0.057	0.371	0.008	sm
13A	0.532	0.016	0.468	0.016	1.000	0.000	1.143	0.074	0.468	0.016	m
14A	0.516	0.032	0.484	0.000	1.000	0.032	1.067	0.067	0.484	0.016	m
15A	0.516	0.000	0.468	0.048	0.984	0.048	1.143	0.115	0.474	0.026	m
16A	0.581	0.000	0.387	0.032	0.968	0.032	1.500	0.126	0.399	0.020	m
17A	0.484	0.032	0.452	0.032	0.935	0.065	1.071	0.005	0.483	0.001	m
18A	0.484	0.032	0.403	0.016	0.887	0.048	1.250	0.032	0.455	0.007	m
19A	0.468	0.016	0.403	0.016	0.871	0.000	1.167	0.087	0.463	0.019	m
20A	0.871	0.097	0.000	0.000	0.871	0.097	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
21A	0.468	0.016	0.403	0.016	0.871	0.032	1.167	0.006	0.463	0.001	m
22A	0.823	0.048	0.000	0.000	0.823	0.048	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
23A	0.500	0.048	0.290	0.032	0.790	0.081	1.667	0.025	0.367	0.003	m
24A	0.661	0.016	0.000	0.000	0.661	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

SP_5: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

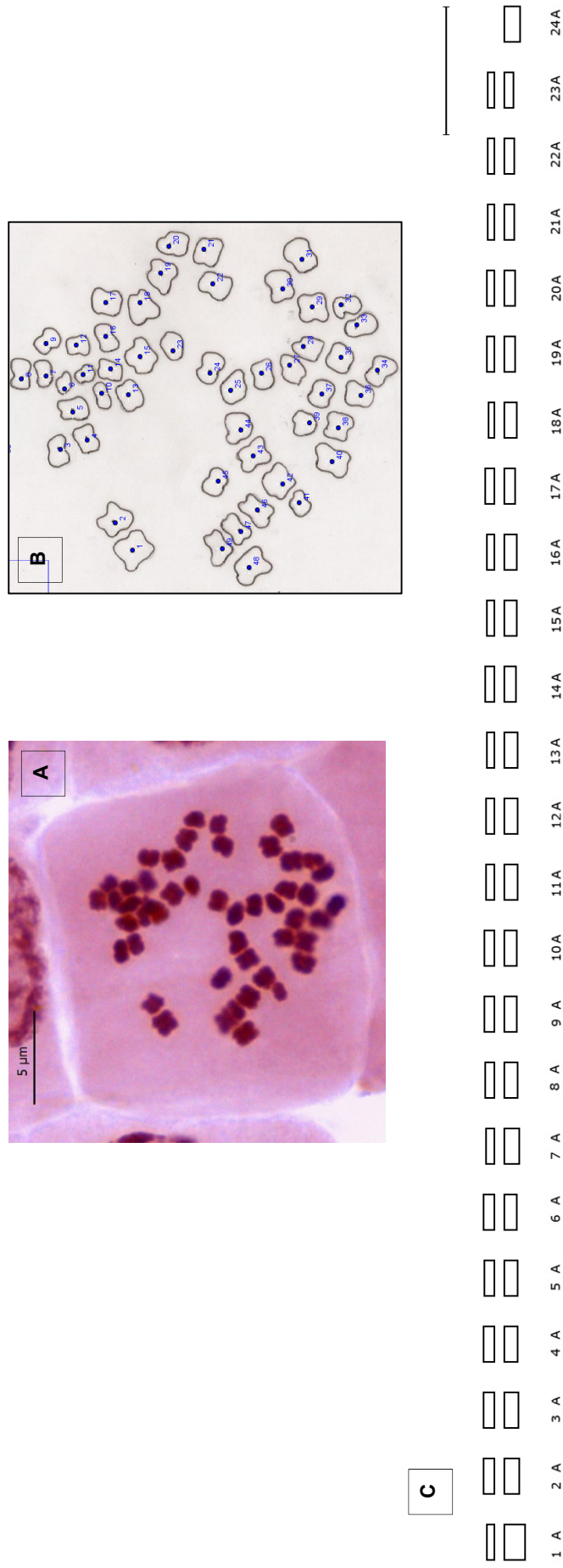


Figura 37. A. Placa metafásica SP_5. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm.

Tabla 25. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
23.016	53.846	0.203	0.310	0.141

Tabla 26. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.887	0.048	0.371	0.016	1.258	0.065	2.455	0.027	0.295	0.002	sm
2A	0.661	0.048	0.500	0.016	1.161	0.032	1.333	0.140	0.431	0.026	m
3A	0.629	0.081	0.484	0.065	1.113	0.016	1.267	0.346	0.436	0.064	m
4A	0.597	0.048	0.500	0.016	1.097	0.032	1.200	0.135	0.457	0.028	m
5A	0.661	0.048	0.403	0.016	1.065	0.065	1.667	0.054	0.379	0.008	m
6A	0.565	0.048	0.484	0.032	1.048	0.081	1.133	0.022	0.462	0.005	m
7A	0.581	0.032	0.452	0.032	1.032	0.065	1.286	0.021	0.437	0.004	m
8A	0.597	0.048	0.419	0.000	1.016	0.048	1.385	0.115	0.414	0.020	m
9A	0.548	0.032	0.468	0.048	1.016	0.016	1.214	0.192	0.460	0.040	m
10A	0.565	0.016	0.452	0.000	1.016	0.016	1.214	0.036	0.445	0.007	m
11A	0.581	0.000	0.387	0.032	0.968	0.032	1.500	0.126	0.399	0.020	m
12A	0.581	0.032	0.387	0.032	0.968	0.000	1.500	0.210	0.400	0.033	m
13A	0.581	0.065	0.371	0.016	0.952	0.081	1.636	0.106	0.391	0.016	m
14A	0.516	0.000	0.435	0.048	0.952	0.048	1.231	0.133	0.456	0.028	m
15A	0.565	0.016	0.371	0.016	0.935	0.032	1.545	0.023	0.396	0.004	m
16A	0.500	0.016	0.419	0.065	0.919	0.081	1.154	0.148	0.453	0.030	m
17A	0.548	0.032	0.355	0.000	0.903	0.032	1.545	0.091	0.393	0.014	m
18A	0.500	0.016	0.371	0.016	0.871	0.032	1.364	0.015	0.426	0.003	m
19A	0.565	0.048	0.290	0.000	0.855	0.048	1.889	0.167	0.341	0.019	sm
20A	0.500	0.016	0.355	0.032	0.855	0.016	1.364	0.175	0.415	0.030	m
21A	0.468	0.016	0.339	0.048	0.806	0.032	1.400	0.250	0.418	0.043	m
22A	0.452	0.032	0.323	0.032	0.774	0.000	1.400	0.242	0.417	0.042	m
23A	0.419	0.000	0.339	0.048	0.758	0.048	1.300	0.181	0.445	0.035	m
24A	0.677	0.000	0.000	0.000	0.677	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

ANEXO 3. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo Celendín

CEL_1: Datos morfológicos obtenidos mediante software IdeoKar

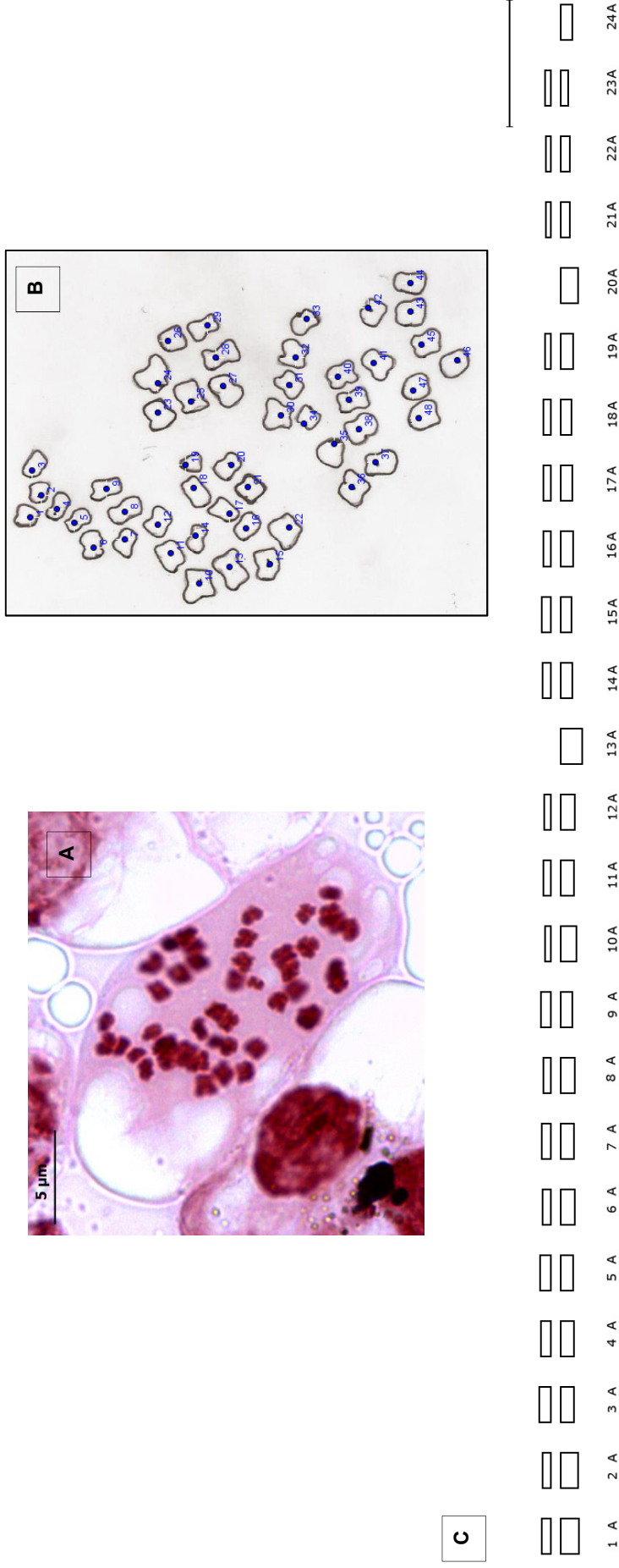


Figura 38. A. Placa metafásica Cel_1. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

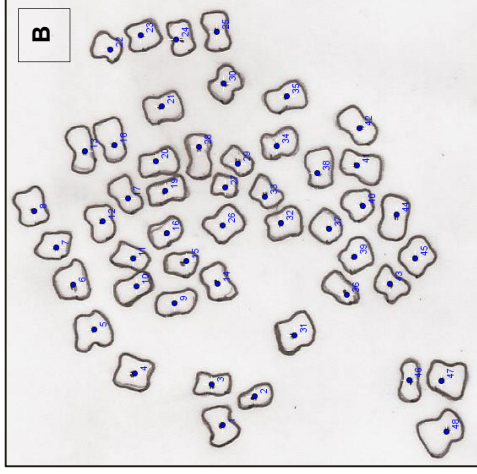
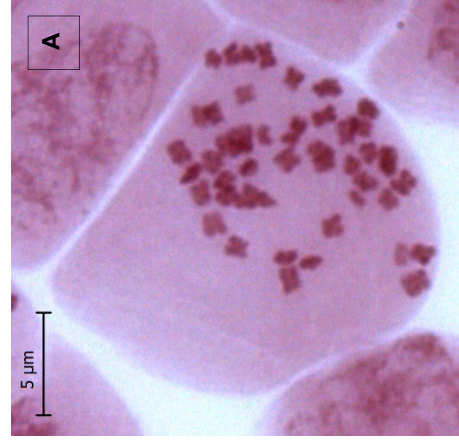
Tabla 27. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
22.224	42.667	0.296	0.403	0.178

Tabla 28. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.795	0.016	0.422	0.000	1.218	0.016	1.846	0.038	0.347	0.005	sm
2A	0.763	0.016	0.406	0.016	1.169	0.032	1.917	0.035	0.347	0.004	sm
3A	0.601	0.016	0.519	0.065	1.120	0.049	1.125	0.179	0.462	0.038	m
4A	0.584	0.000	0.471	0.016	1.055	0.016	1.286	0.043	0.446	0.009	m
5A	0.568	0.049	0.487	0.000	1.055	0.049	1.133	0.100	0.463	0.021	m
6A	0.633	0.016	0.406	0.016	1.039	0.000	1.583	0.103	0.391	0.016	m
7A	0.584	0.032	0.422	0.000	1.006	0.032	1.385	0.077	0.420	0.014	m
8A	0.698	0.016	0.308	0.016	1.006	0.000	2.333	0.172	0.306	0.016	sm
9A	0.617	0.000	0.373	0.016	0.990	0.016	1.727	0.072	0.377	0.010	sm
10A	0.536	0.016	0.455	0.032	0.990	0.016	1.143	0.121	0.459	0.025	m
11A	0.601	0.016	0.373	0.016	0.974	0.000	1.636	0.114	0.383	0.017	m
12A	0.617	0.032	0.341	0.016	0.958	0.016	1.900	0.182	0.356	0.023	sm
13A	0.536	0.016	0.406	0.016	0.942	0.000	1.333	0.093	0.431	0.017	m
14A	0.503	0.016	0.438	0.016	0.942	0.000	1.154	0.080	0.466	0.017	m
15A	0.568	0.016	0.357	0.032	0.925	0.049	1.545	0.100	0.385	0.015	m
16A	0.909	0.032	0.000	0.000	0.909	0.032	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
17A	0.519	0.032	0.357	0.000	0.877	0.032	1.455	0.091	0.408	0.015	m
18A	0.552	0.000	0.308	0.016	0.860	0.016	1.889	0.094	0.358	0.012	sm
19A	0.487	0.000	0.357	0.000	0.844	0.000	1.364	0.000	0.423	0.000	m
20A	0.747	0.032	0.000	0.000	0.747	0.032	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
21A	0.438	0.016	0.260	0.000	0.698	0.016	1.625	0.063	0.372	0.009	m
22A	0.422	0.000	0.276	0.016	0.698	0.016	1.625	0.090	0.395	0.014	m
23A	0.373	0.016	0.308	0.016	0.682	0.000	1.222	0.117	0.452	0.024	m
24A	0.519	0.000	0.000	0.000	0.519	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

CEL_2: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar



C

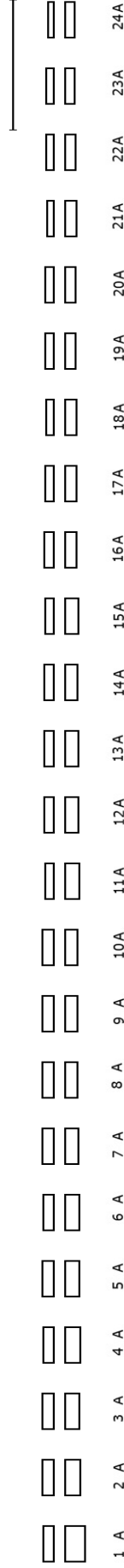


Figura 39. A. Placa metafásica **Cel_2. B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm .

Tabla 29. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
21.369	57.534	0.123	0.214	0.131

Tabla 30. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.748	0.016	0.414	0.000	1.162	0.016	1.769	0.038	0.356	0.005	sm
2A	0.589	0.048	0.462	0.048	1.051	0.096	1.286	0.029	0.439	0.006	m
3A	0.557	0.048	0.462	0.016	1.019	0.032	1.214	0.145	0.454	0.030	m
4A	0.589	0.016	0.414	0.032	1.003	0.016	1.385	0.149	0.412	0.025	m
5A	0.541	0.032	0.446	0.000	0.987	0.032	1.214	0.071	0.452	0.015	m
6A	0.557	0.016	0.414	0.000	0.971	0.016	1.308	0.038	0.426	0.007	m
7A	0.510	0.000	0.446	0.032	0.955	0.032	1.143	0.082	0.466	0.018	m
8A	0.494	0.016	0.446	0.032	0.939	0.016	1.071	0.115	0.474	0.026	m
9A	0.478	0.000	0.462	0.016	0.939	0.016	1.071	0.036	0.491	0.009	m
10A	0.478	0.000	0.446	0.000	0.924	0.000	1.071	0.000	0.483	0.000	m
11A	0.541	0.000	0.366	0.016	0.908	0.016	1.545	0.064	0.403	0.010	m
12A	0.510	0.000	0.398	0.016	0.908	0.016	1.333	0.051	0.438	0.010	m
13A	0.510	0.000	0.398	0.016	0.908	0.016	1.333	0.051	0.438	0.010	m
14A	0.525	0.016	0.366	0.016	0.892	0.032	1.455	0.019	0.411	0.003	m
15A	0.478	0.032	0.398	0.016	0.876	0.016	1.250	0.128	0.455	0.026	m
16A	0.462	0.016	0.398	0.016	0.860	0.032	1.167	0.006	0.463	0.001	m
17A	0.462	0.016	0.350	0.032	0.812	0.048	1.273	0.075	0.431	0.014	m
18A	0.462	0.016	0.334	0.016	0.796	0.000	1.400	0.114	0.420	0.020	m
19A	0.430	0.016	0.366	0.016	0.796	0.000	1.182	0.095	0.460	0.020	m
20A	0.414	0.000	0.350	0.000	0.764	0.000	1.182	0.000	0.458	0.000	m
21A	0.462	0.016	0.303	0.016	0.764	0.000	1.556	0.133	0.396	0.021	m
22A	0.430	0.016	0.318	0.032	0.748	0.048	1.300	0.086	0.425	0.015	m
23A	0.382	0.032	0.334	0.016	0.717	0.048	1.200	0.041	0.467	0.009	m
24A	0.398	0.048	0.271	0.016	0.669	0.032	1.500	0.264	0.407	0.043	m

CEL_3: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

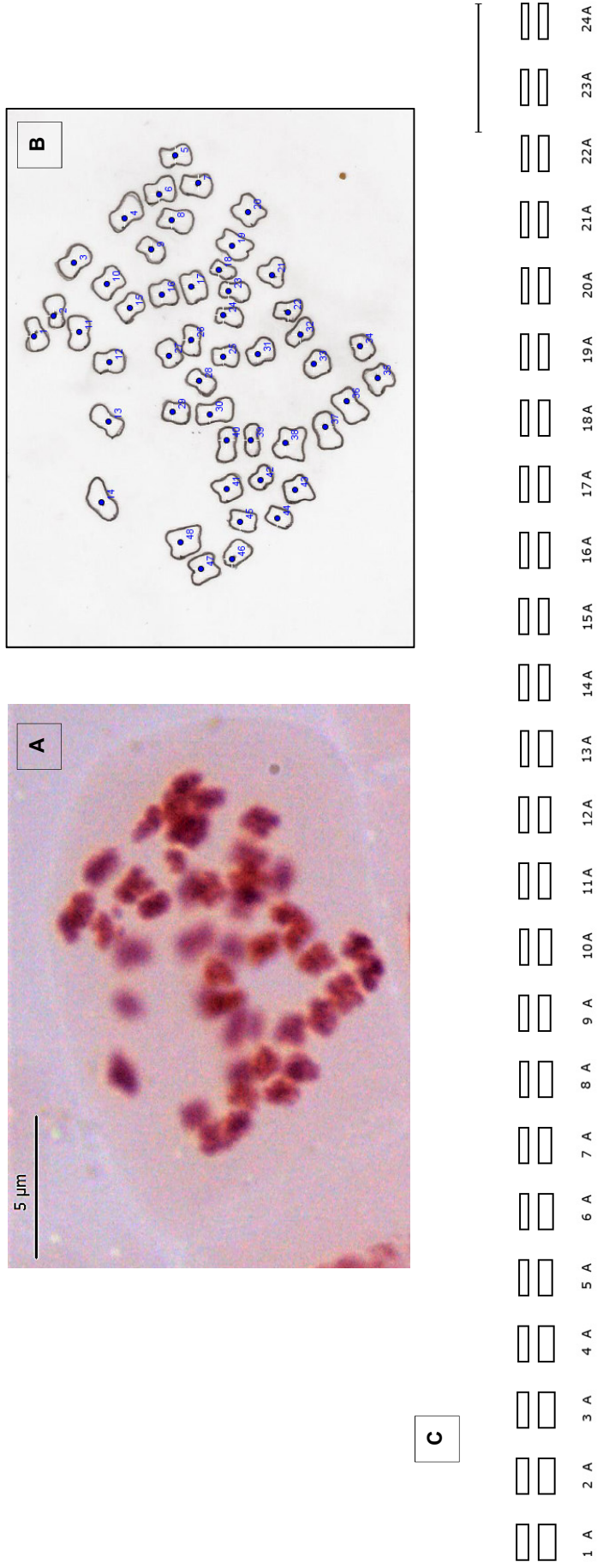


Figura 40. A. Placa metafásica Cel_3. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

Tabla 31. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
22.629	61.842	0.133	0.231	0.140

Tabla 32. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.710	0.097	0.516	0.065	1.226	0.032	1.375	0.365	0.423	0.064	m
2A	0.677	0.032	0.516	0.032	1.194	0.000	1.313	0.145	0.432	0.027	m
3A	0.677	0.000	0.484	0.032	1.161	0.032	1.400	0.094	0.416	0.016	m
4A	0.645	0.032	0.468	0.016	1.113	0.016	1.429	0.117	0.421	0.021	m
5A	0.613	0.065	0.403	0.016	1.016	0.081	1.583	0.099	0.398	0.016	m
6A	0.581	0.000	0.435	0.016	1.016	0.016	1.385	0.049	0.428	0.009	m
7A	0.597	0.016	0.403	0.048	1.000	0.032	1.500	0.221	0.402	0.035	m
8A	0.565	0.016	0.419	0.032	0.984	0.048	1.308	0.065	0.426	0.012	m
9A	0.532	0.016	0.435	0.016	0.968	0.032	1.231	0.008	0.450	0.002	m
10A	0.548	0.032	0.403	0.016	0.952	0.048	1.417	0.026	0.424	0.005	m
11A	0.532	0.016	0.419	0.032	0.952	0.048	1.231	0.060	0.440	0.012	m
12A	0.581	0.000	0.371	0.016	0.952	0.016	1.636	0.068	0.390	0.010	m
13A	0.516	0.065	0.419	0.000	0.935	0.065	1.231	0.154	0.450	0.031	m
14A	0.484	0.000	0.435	0.016	0.919	0.016	1.154	0.041	0.474	0.009	m
15A	0.452	0.000	0.435	0.016	0.887	0.016	1.077	0.038	0.491	0.009	m
16A	0.484	0.000	0.403	0.016	0.887	0.016	1.250	0.048	0.454	0.010	m
17A	0.484	0.032	0.387	0.000	0.871	0.032	1.250	0.083	0.445	0.016	m
18A	0.484	0.000	0.355	0.000	0.839	0.000	1.364	0.000	0.423	0.000	m
19A	0.452	0.000	0.371	0.016	0.823	0.016	1.273	0.053	0.451	0.011	m
20A	0.484	0.000	0.339	0.016	0.823	0.016	1.500	0.068	0.412	0.012	m
21A	0.468	0.016	0.339	0.016	0.806	0.000	1.400	0.114	0.420	0.020	m
22A	0.435	0.016	0.355	0.000	0.790	0.016	1.182	0.045	0.449	0.009	m
23A	0.403	0.016	0.355	0.032	0.758	0.016	1.091	0.150	0.467	0.033	m
24A	0.435	0.016	0.323	0.032	0.758	0.016	1.300	0.187	0.425	0.034	m

CEL_4: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

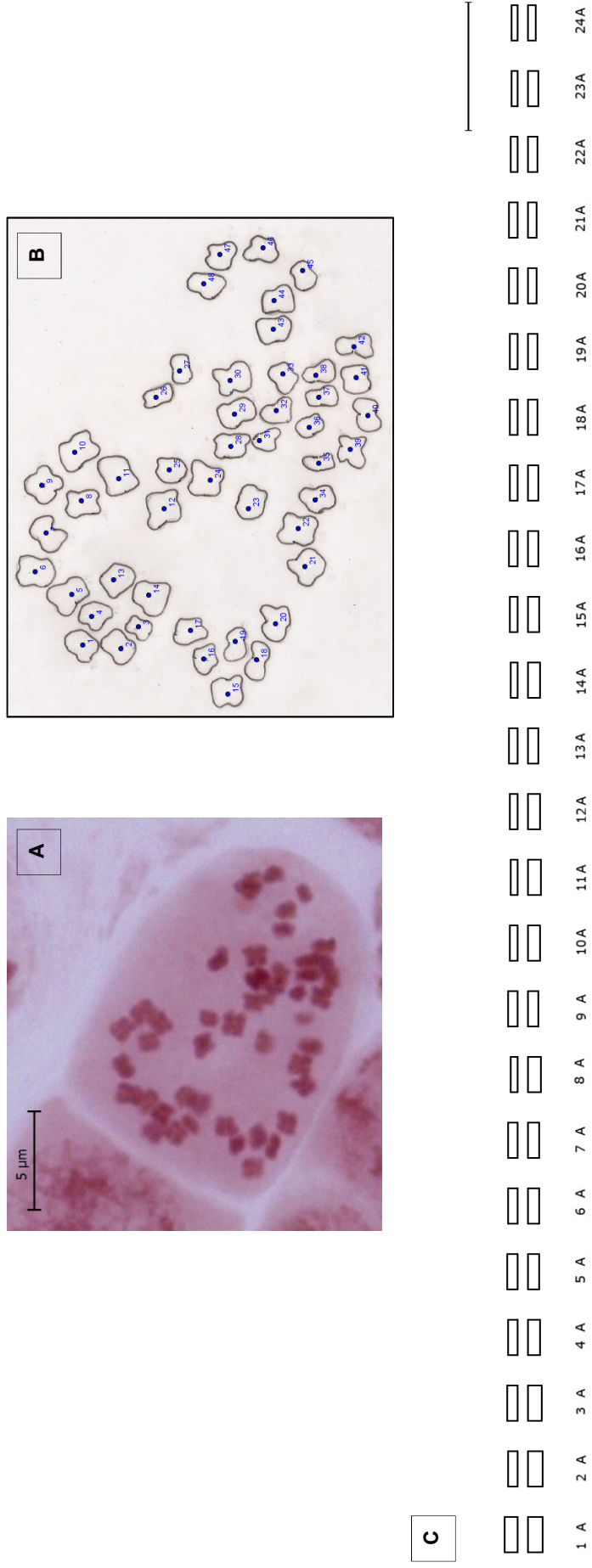


Figura 41. A. Placa metafásica Cel_4. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

Tabla 33. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
20.833	56.944	0.121	0.210	0.123

Tabla 34. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.609	0.000	0.545	0.000	1.154	0.000	1.118	0.000	0.472	0.000	m
2A	0.625	0.016	0.417	0.032	1.042	0.016	1.462	0.155	0.400	0.025	m
3A	0.593	0.016	0.449	0.032	1.042	0.016	1.286	0.131	0.430	0.024	m
4A	0.529	0.016	0.433	0.016	0.962	0.032	1.231	0.008	0.450	0.002	m
5A	0.497	0.016	0.449	0.032	0.945	0.048	1.071	0.044	0.474	0.010	m
6A	0.481	0.000	0.417	0.032	0.897	0.032	1.154	0.089	0.464	0.019	m
7A	0.481	0.032	0.417	0.000	0.897	0.032	1.154	0.077	0.465	0.017	m
8A	0.545	0.000	0.337	0.016	0.881	0.016	1.700	0.077	0.382	0.011	sm
9A	0.465	0.016	0.417	0.032	0.881	0.048	1.077	0.048	0.472	0.011	m
10A	0.513	0.000	0.369	0.016	0.881	0.016	1.455	0.061	0.418	0.011	m
11A	0.465	0.016	0.401	0.016	0.865	0.000	1.167	0.087	0.463	0.019	m
12A	0.513	0.000	0.353	0.000	0.865	0.000	1.455	0.000	0.407	0.000	m
13A	0.545	0.128	0.321	0.000	0.865	0.128	1.700	0.400	0.379	0.056	sm
14A	0.529	0.016	0.337	0.048	0.865	0.032	1.600	0.278	0.387	0.041	m
15A	0.481	0.000	0.353	0.000	0.833	0.000	1.364	0.000	0.423	0.000	m
16A	0.449	0.000	0.385	0.064	0.833	0.064	1.167	0.200	0.458	0.042	m
17A	0.465	0.048	0.353	0.032	0.817	0.016	1.273	0.258	0.432	0.048	m
18A	0.433	0.016	0.353	0.032	0.785	0.048	1.182	0.067	0.448	0.013	m
19A	0.401	0.016	0.385	0.032	0.785	0.048	1.000	0.045	0.489	0.011	M
20A	0.401	0.016	0.385	0.032	0.785	0.048	1.000	0.045	0.489	0.011	M
21A	0.433	0.016	0.337	0.048	0.769	0.064	1.300	0.139	0.435	0.026	m
22A	0.417	0.000	0.353	0.032	0.769	0.032	1.182	0.108	0.457	0.023	m
23A	0.449	0.000	0.304	0.016	0.753	0.016	1.556	0.078	0.404	0.013	m
24A	0.369	0.016	0.288	0.000	0.657	0.016	1.222	0.056	0.439	0.011	m

CEL_5: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

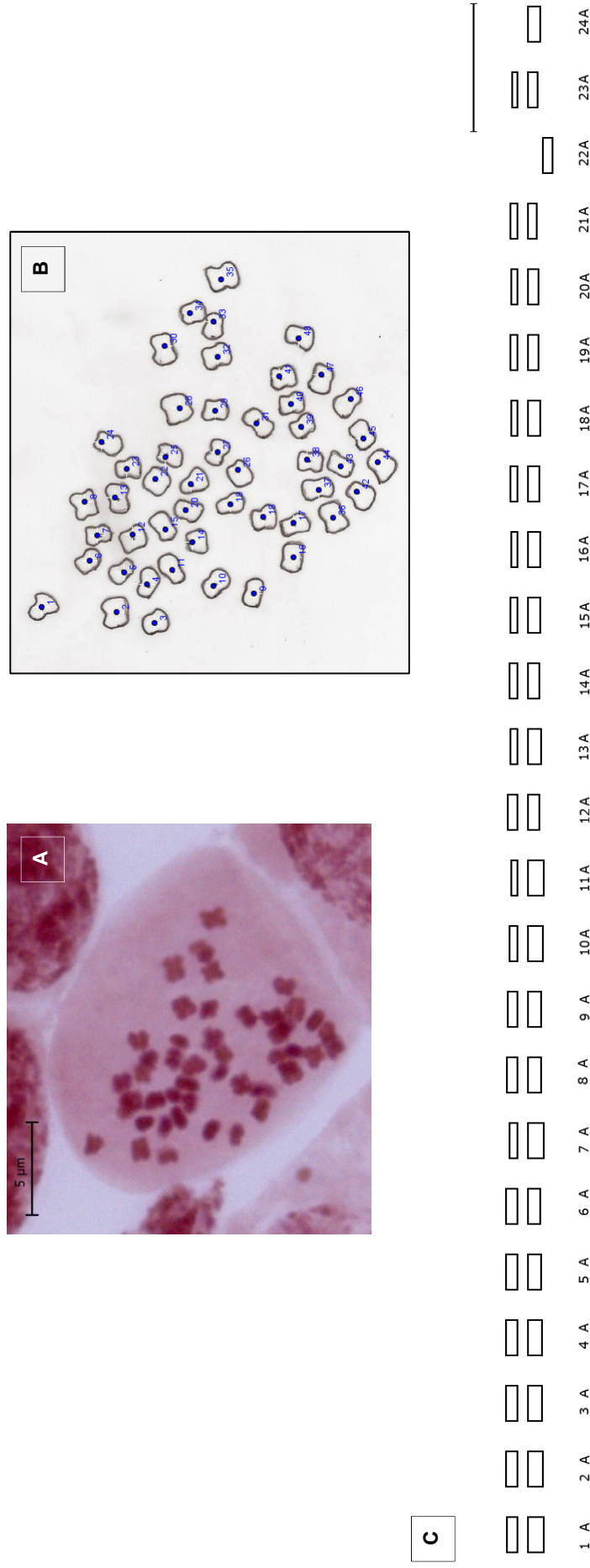


Figura 42. A. Placa metafásica Cel_5. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μ m.

Tabla 35. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
21.394	47.143	0.211	0.321	0.170

Tabla 36. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.657	0.048	0.465	0.016	1.122	0.032	1.429	0.152	0.415	0.026	m
2A	0.609	0.032	0.497	0.016	1.106	0.016	1.267	0.104	0.450	0.021	m
3A	0.593	0.048	0.497	0.016	1.090	0.032	1.200	0.135	0.457	0.028	m
4A	0.577	0.000	0.497	0.016	1.074	0.016	1.200	0.037	0.463	0.008	m
5A	0.545	0.000	0.481	0.000	1.026	0.000	1.133	0.000	0.469	0.000	m
6A	0.657	0.048	0.353	0.032	1.010	0.080	1.818	0.033	0.349	0.004	sm
7A	0.529	0.016	0.481	0.032	1.010	0.048	1.067	0.040	0.476	0.009	m
8A	0.545	0.064	0.449	0.032	0.994	0.032	1.214	0.231	0.453	0.047	m
9A	0.545	0.000	0.433	0.016	0.978	0.016	1.308	0.047	0.442	0.009	m
10A	0.609	0.000	0.353	0.000	0.962	0.000	1.727	0.000	0.367	0.000	sm
11A	0.641	0.000	0.288	0.000	0.929	0.000	2.222	0.000	0.310	0.000	sm
12A	0.497	0.048	0.417	0.000	0.913	0.048	1.154	0.115	0.457	0.024	m
13A	0.545	0.000	0.321	0.000	0.865	0.000	1.700	0.000	0.370	0.000	sm
14A	0.481	0.000	0.353	0.000	0.833	0.000	1.364	0.000	0.423	0.000	m
15A	0.513	0.032	0.321	0.000	0.833	0.032	1.600	0.100	0.385	0.015	m
16A	0.481	0.000	0.337	0.016	0.817	0.016	1.500	0.068	0.412	0.012	m
17A	0.513	0.000	0.304	0.016	0.817	0.016	1.778	0.089	0.372	0.012	sm
18A	0.513	0.000	0.288	0.000	0.801	0.000	1.778	0.000	0.360	0.000	sm
19A	0.465	0.016	0.337	0.016	0.801	0.000	1.400	0.114	0.420	0.020	m
20A	0.465	0.016	0.304	0.016	0.769	0.032	1.556	0.028	0.396	0.004	m
21A	0.401	0.016	0.321	0.064	0.721	0.048	1.200	0.313	0.440	0.060	m
22A	0.433	0.016	0.272	0.016	0.705	0.000	1.625	0.153	0.386	0.023	m
23A	0.417	0.000	0.272	0.016	0.689	0.016	1.625	0.090	0.395	0.014	m
24A	0.529	0.016	0.000	0.000	0.529	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

ANEXO 4. Placas metafásicas analizadas para obtener fórmula cromosómica – Ecotipo Cajabamba.

CAJ_1: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideakar

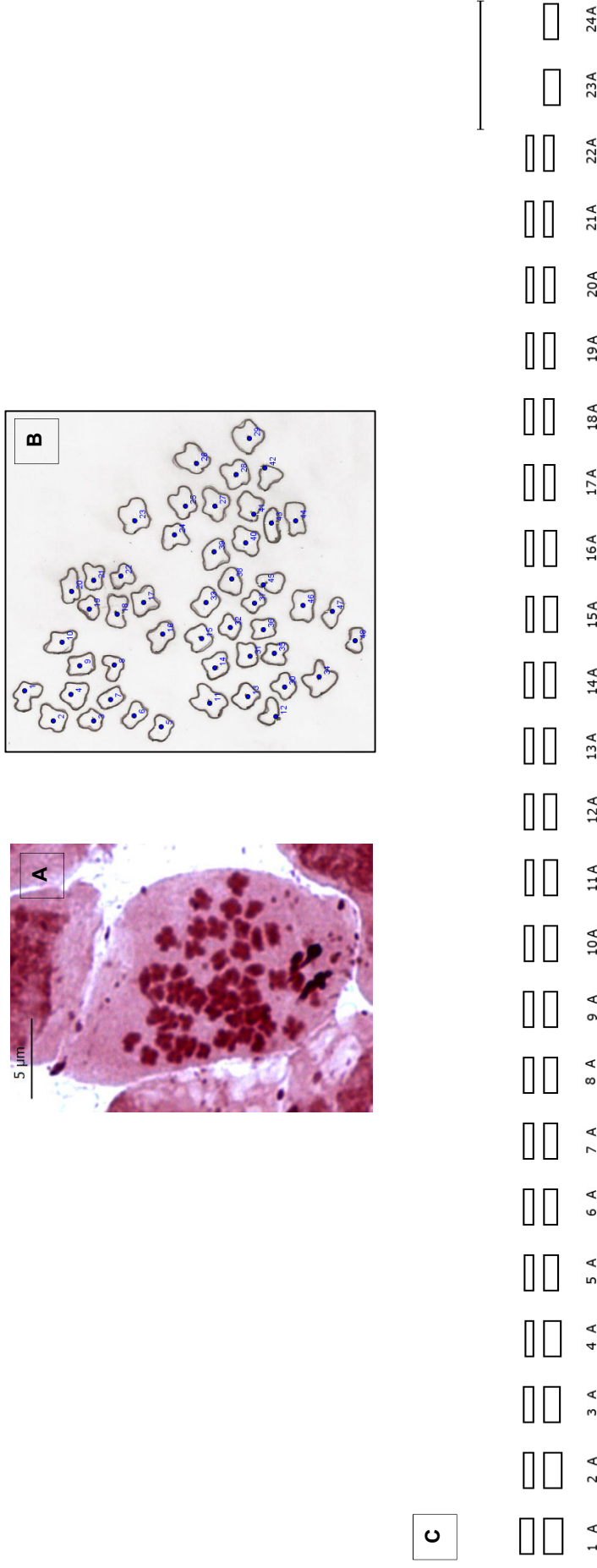


Figura 43. A. Placa metafásica CAJ_1. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

Tabla 37. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
21.731	44.444	0.225	0.323	0.172

Tabla 38. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.737	0.000	0.561	0.016	1.298	0.016	1.353	0.038	0.432	0.007	m
2A	0.721	0.016	0.433	0.048	1.154	0.032	1.692	0.225	0.374	0.031	m
3A	0.657	0.048	0.433	0.016	1.090	0.064	1.538	0.055	0.398	0.009	m
4A	0.689	0.016	0.369	0.016	1.058	0.032	1.909	0.038	0.348	0.005	sm
5A	0.593	0.016	0.401	0.016	0.994	0.032	1.500	0.019	0.403	0.003	m
6A	0.561	0.016	0.417	0.000	0.978	0.016	1.308	0.038	0.426	0.007	m
7A	0.545	0.032	0.417	0.000	0.962	0.032	1.308	0.077	0.434	0.014	m
8A	0.545	0.032	0.417	0.032	0.962	0.064	1.308	0.024	0.433	0.004	m
9A	0.545	0.000	0.417	0.032	0.962	0.032	1.308	0.101	0.433	0.019	m
10A	0.545	0.000	0.401	0.016	0.946	0.016	1.417	0.054	0.424	0.010	m
11A	0.529	0.016	0.401	0.016	0.929	0.000	1.333	0.093	0.431	0.017	m
12A	0.561	0.048	0.353	0.032	0.913	0.016	1.545	0.283	0.387	0.042	m
13A	0.561	0.016	0.337	0.016	0.897	0.000	1.700	0.127	0.375	0.018	sm
14A	0.529	0.016	0.353	0.032	0.881	0.048	1.455	0.092	0.399	0.015	m
15A	0.481	0.000	0.385	0.032	0.865	0.032	1.250	0.105	0.444	0.021	m
16A	0.481	N_A	0.385	N_A	0.865	N_A	1.250	N_A	0.444	N_A	m
17A	0.449	0.000	0.401	0.048	0.849	0.048	1.167	0.136	0.470	0.030	m
18A	0.433	0.016	0.401	0.016	0.833	0.032	1.083	0.003	0.481	0.001	m
19A	0.465	0.016	0.321	0.000	0.785	0.016	1.400	0.050	0.408	0.008	m
20A	0.449	0.032	0.337	0.016	0.785	0.016	1.400	0.159	0.429	0.029	m
21A	0.385	0.000	0.369	0.016	0.753	0.016	1.091	0.045	0.489	0.011	m
22A	0.417	0.000	0.321	0.000	0.737	0.000	1.300	0.000	0.435	0.000	m
23A	0.657	0.016	0.000	0.000	0.657	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.577	0.000	0.000	0.000	0.577	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

CAJ_2: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

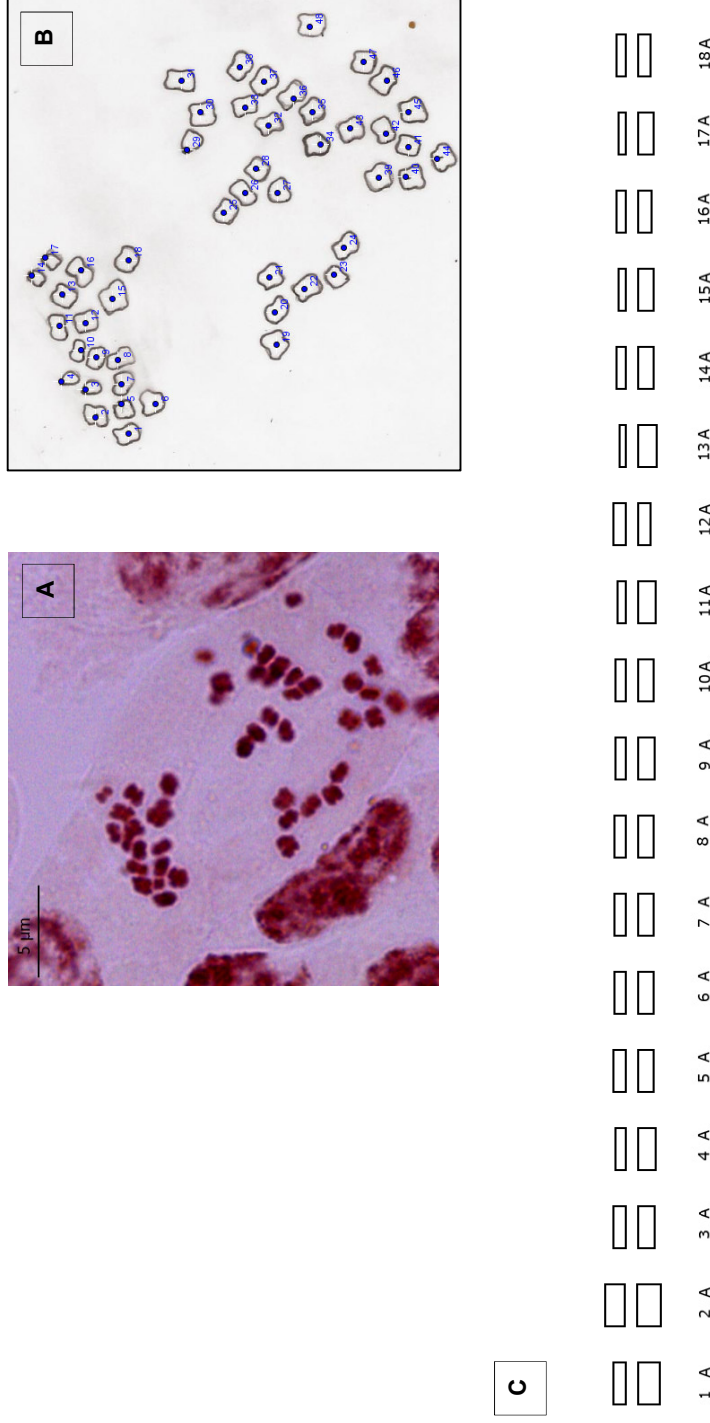


Figura 44. A. Placa metafásica CAJ_2. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

Tabla 39. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
20.859	39.189	0.300	0.408	0.193

Tabla 40. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.732	0.000	0.446	0.032	1.178	0.032	1.643	0.118	0.378	0.017	m
2A	0.573	0.064	0.462	0.048	1.035	0.016	1.286	0.269	0.447	0.053	m
3A	0.669	0.000	0.350	0.000	1.019	0.000	1.909	0.000	0.344	0.000	sm
4A	0.621	0.080	0.398	0.016	1.019	0.064	1.583	0.263	0.393	0.040	m
5A	0.541	0.032	0.446	0.000	0.987	0.032	1.214	0.071	0.452	0.015	m
6A	0.541	0.032	0.430	0.016	0.971	0.048	1.308	0.027	0.443	0.005	m
7A	0.557	0.048	0.414	0.000	0.971	0.048	1.308	0.115	0.427	0.021	m
8A	0.541	0.032	0.414	0.000	0.955	0.032	1.308	0.077	0.434	0.014	m
9A	0.557	0.016	0.398	0.016	0.955	0.032	1.417	0.016	0.417	0.003	m
10A	0.573	0.032	0.382	0.000	0.955	0.032	1.500	0.083	0.400	0.013	m
11A	0.605	0.032	0.318	0.032	0.924	0.000	1.900	0.293	0.345	0.034	sm
12A	0.541	0.032	0.366	0.048	0.908	0.016	1.545	0.285	0.403	0.046	m
13A	0.462	0.016	0.446	0.032	0.908	0.048	1.000	0.038	0.491	0.009	M
14A	0.637	0.032	0.255	0.000	0.892	0.032	2.500	0.125	0.286	0.010	sm
15A	0.557	0.016	0.303	0.016	0.860	0.032	1.889	0.044	0.352	0.005	sm
16A	0.494	0.048	0.366	0.016	0.860	0.032	1.364	0.189	0.427	0.034	m
17A	0.541	0.032	0.287	0.032	0.828	0.064	1.889	0.100	0.345	0.012	sm
18A	0.462	0.048	0.350	0.000	0.812	0.048	1.273	0.136	0.433	0.025	m
19A	0.494	0.016	0.303	0.016	0.796	0.032	1.667	0.033	0.380	0.005	m
20A	0.414	0.032	0.334	0.016	0.748	0.048	1.300	0.036	0.447	0.007	m
21A	0.446	0.000	0.255	0.032	0.701	0.032	1.750	0.222	0.362	0.029	sm
22A	0.573	0.000	0.000	0.000	0.573	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
23A	0.541	0.000	0.000	0.000	0.541	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.462	0.016	0.000	0.000	0.462	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

CAJ_3: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

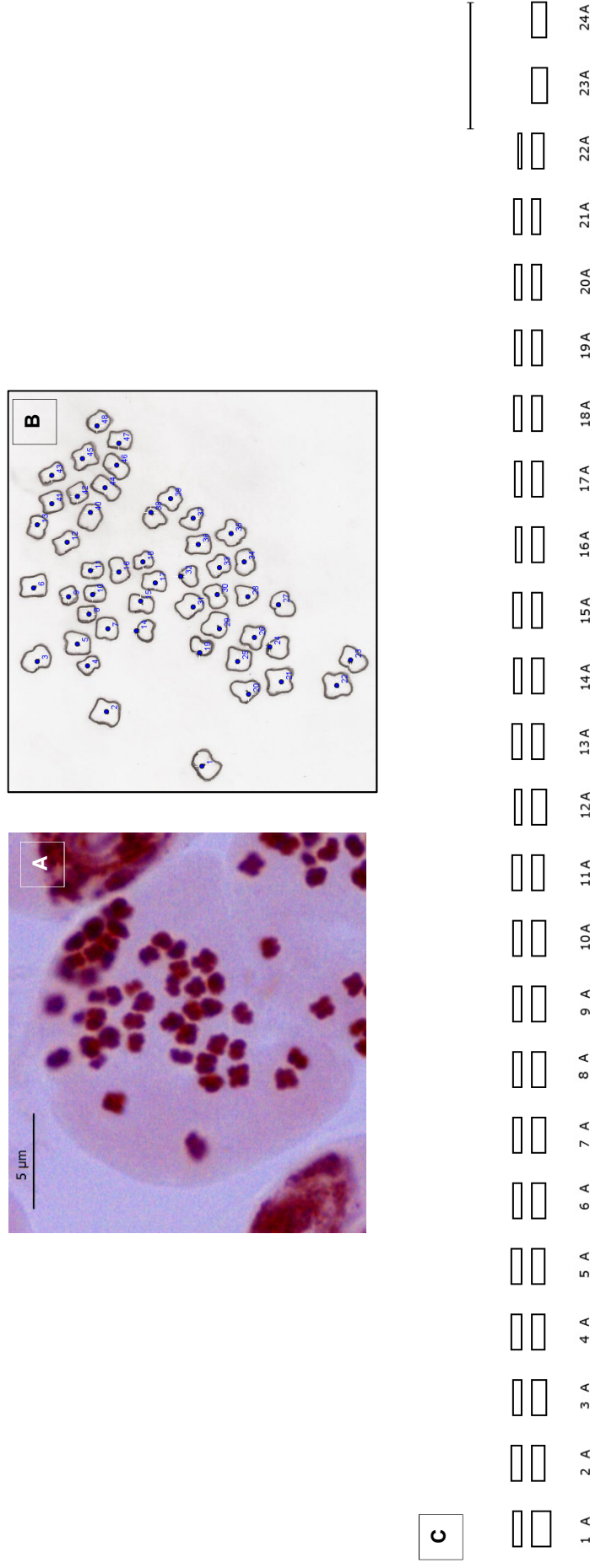


Figura 45. A. Placa metafásica CAJ_3. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm .

Tabla 41. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
21.542	54.167	0.247	0.352	0.146

Tabla 42. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.779	0.065	0.390	0.032	1.169	0.032	2.000	0.336	0.334	0.037	sm
2A	0.568	0.049	0.455	0.000	1.023	0.049	1.214	0.107	0.445	0.021	m
3A	0.568	0.016	0.455	0.032	1.023	0.016	1.214	0.126	0.444	0.025	m
4A	0.552	0.032	0.455	0.032	1.006	0.000	1.214	0.159	0.452	0.032	m
5A	0.617	0.032	0.390	0.000	1.006	0.032	1.583	0.083	0.388	0.012	m
6A	0.584	0.000	0.406	0.016	0.990	0.016	1.500	0.058	0.410	0.010	m
7A	0.584	0.032	0.390	0.000	0.974	0.032	1.500	0.083	0.400	0.013	m
8A	0.584	0.032	0.390	0.000	0.974	0.032	1.500	0.083	0.400	0.013	m
9A	0.584	0.032	0.390	0.000	0.974	0.032	1.500	0.083	0.400	0.013	m
10A	0.584	0.032	0.390	0.000	0.974	0.032	1.500	0.083	0.400	0.013	m
11A	0.519	0.032	0.438	0.016	0.958	0.049	1.231	0.030	0.458	0.006	m
12A	0.617	0.032	0.341	0.016	0.958	0.016	1.900	0.182	0.356	0.023	sm
13A	0.519	0.000	0.438	0.016	0.958	0.016	1.231	0.044	0.457	0.009	m
14A	0.519	0.032	0.373	0.016	0.893	0.016	1.455	0.148	0.419	0.026	m
15A	0.455	0.000	0.406	0.016	0.860	0.016	1.167	0.045	0.472	0.010	m
16A	0.519	0.000	0.308	0.016	0.828	0.016	1.778	0.089	0.372	0.012	sm
17A	0.487	0.000	0.341	0.016	0.828	0.016	1.500	0.068	0.412	0.012	m
18A	0.471	0.016	0.357	0.000	0.828	0.016	1.273	0.045	0.432	0.008	m
19A	0.455	0.000	0.325	0.000	0.779	0.000	1.400	0.000	0.417	0.000	m
20A	0.406	0.016	0.357	0.000	0.763	0.016	1.091	0.045	0.468	0.010	m
21A	0.422	0.000	0.325	0.032	0.747	0.032	1.300	0.131	0.434	0.025	m
22A	0.536	0.016	0.195	0.000	0.731	0.016	2.667	0.083	0.267	0.006	sm
23A	0.666	0.016	0.000	0.000	0.666	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.633	0.016	0.000	0.000	0.633	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

CAJ_4: Datos morfológicos obtenidos mediante software Ideokar

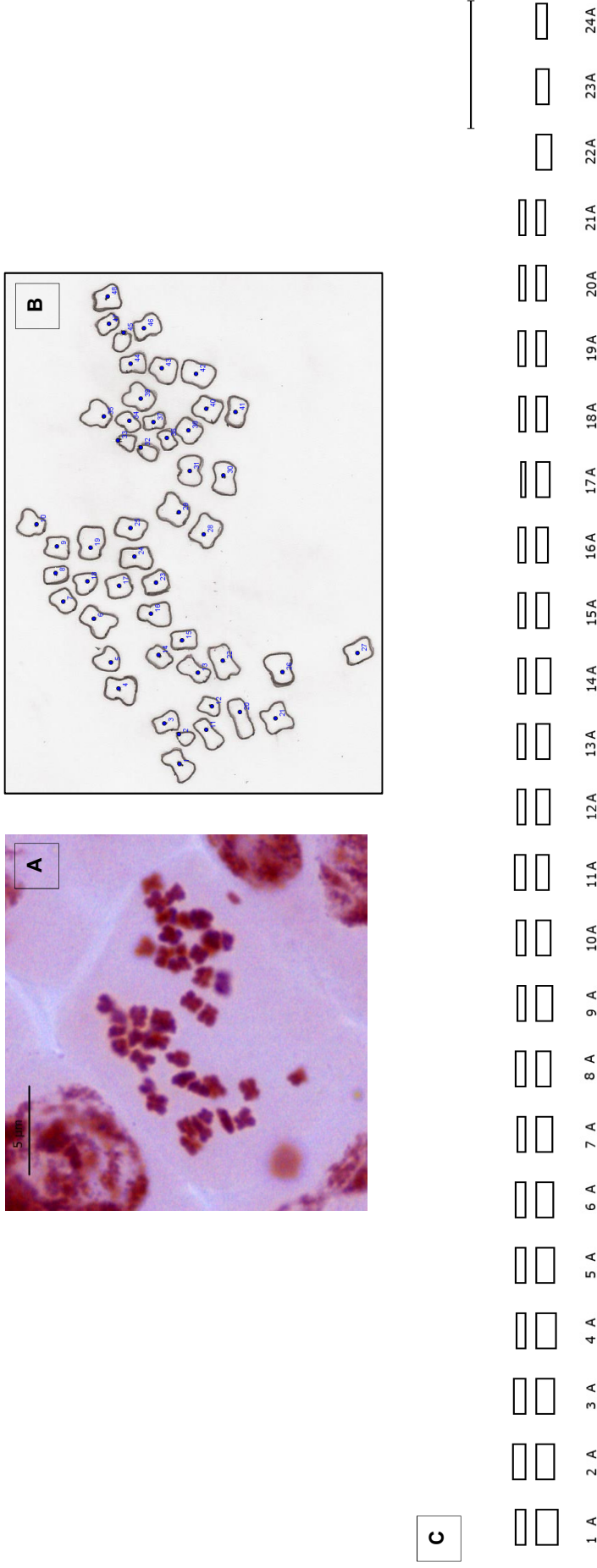


Figura 46. A. Placa metafásica CAJ_4. **B.** Esquema que individualiza los 2n = 48 cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 µm.

Tabla 43. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
21.843	36.709	0.318	0.436	0.244

Tabla 44. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.849	0.080	0.417	0.000	1.266	0.080	2.000	0.192	0.330	0.021	sm
2A	0.705	0.000	0.529	0.016	1.234	0.016	1.375	0.040	0.428	0.007	m
3A	0.721	0.016	0.497	0.016	1.218	0.000	1.467	0.079	0.408	0.013	m
4A	0.769	0.064	0.401	0.016	1.170	0.048	2.000	0.237	0.344	0.028	sm
5A	0.721	0.016	0.417	0.000	1.138	0.016	1.692	0.038	0.366	0.005	m
6A	0.689	0.016	0.433	0.016	1.122	0.032	1.615	0.022	0.386	0.003	m
7A	0.593	0.016	0.417	0.032	1.010	0.048	1.385	0.071	0.412	0.012	m
8A	0.641	0.032	0.369	0.016	1.010	0.016	1.818	0.163	0.365	0.022	sm
9A	0.593	0.048	0.401	0.016	0.994	0.064	1.500	0.061	0.404	0.010	m
10A	0.641	0.032	0.353	0.000	0.994	0.032	1.818	0.091	0.355	0.011	sm
11A	0.529	0.048	0.465	0.016	0.994	0.032	1.143	0.143	0.469	0.031	m
12A	0.545	0.000	0.369	0.048	0.913	0.048	1.545	0.196	0.402	0.031	m
13A	0.593	0.048	0.321	0.000	0.913	0.048	1.800	0.150	0.352	0.019	sm
14A	0.545	0.000	0.353	0.000	0.897	0.000	1.545	0.000	0.393	0.000	m
15A	0.529	0.016	0.337	0.016	0.865	0.000	1.600	0.123	0.389	0.019	m
16A	0.481	0.032	0.337	0.016	0.817	0.048	1.500	0.027	0.412	0.005	m
17A	0.561	0.016	0.240	0.016	0.801	0.032	2.429	0.089	0.300	0.008	sm
18A	0.465	0.016	0.288	0.000	0.753	0.016	1.556	0.056	0.383	0.008	m
19A	0.417	0.032	0.321	0.032	0.737	0.000	1.300	0.232	0.435	0.043	m
20A	0.417	0.000	0.304	0.016	0.721	0.016	1.444	0.072	0.422	0.013	m
21A	0.385	0.000	0.288	0.000	0.673	0.000	1.333	0.000	0.429	0.000	m
22A	0.625	0.016	0.000	0.000	0.625	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
23A	0.513	0.000	0.000	0.000	0.513	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T
24A	0.465	0.016	0.000	0.000	0.465	0.016	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

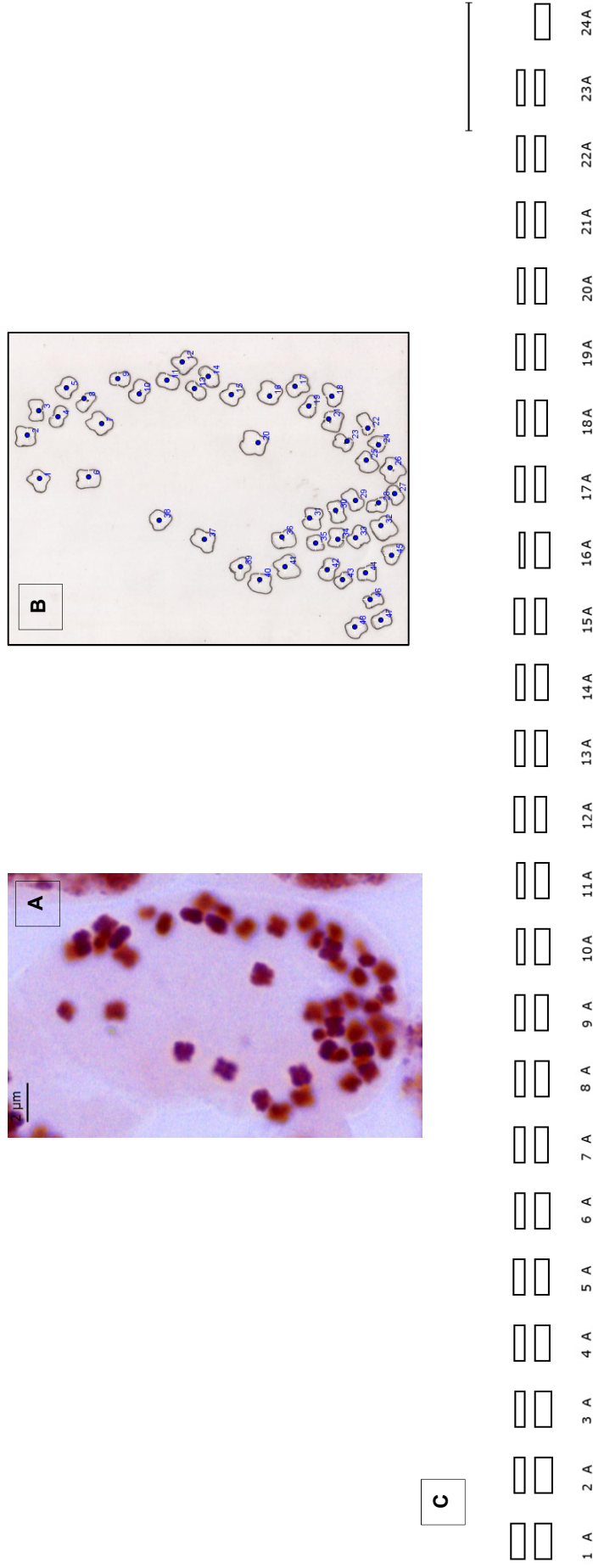


Figura 47. A. Placa metafásica CAJ_5. **B.** Esquema que individualiza los $2n = 48$ cromosomas. **C.** Idiograma, escala 5 μm .

Tabla 45. Datos cariotípicos tales como HCL: long. total del complemento, S%: porcentaje de simetría; A: índice de asimetría; A1: asimetría intracromosómica; A2: Asimetría intercromosómica

HCL	S%	A	A1	A2
22.940	48.718	0.183	0.280	0.145

Tabla 46. Datos correspondientes a la morfología de los pares cromosómicos. (L) Longitud del brazo largo, (S) longitud del brazo corto, (LC) longitud total del cromosoma, (AR) *Arm ratio* o índice braquial, (IC) Índice centromérico, (DE) Desviación estándar.

PAR CROMOSÓMICO	L	DE	S	DE	LC	DE	AR	DE	IC	DE	TIPO
1A	0.677	0.064	0.580	0.000	1.257	0.064	1.167	0.111	0.463	0.024	m
2A	0.725	0.016	0.451	0.032	1.177	0.016	1.571	0.151	0.383	0.022	m
3A	0.677	0.000	0.435	0.016	1.112	0.016	1.615	0.058	0.391	0.009	m
4A	0.629	0.081	0.467	0.016	1.096	0.064	1.357	0.219	0.429	0.040	m
5A	0.596	0.048	0.500	0.016	1.096	0.032	1.200	0.135	0.457	0.028	m
6A	0.613	0.000	0.419	0.000	1.032	0.000	1.462	0.000	0.406	0.000	m
7A	0.596	0.016	0.419	0.000	1.016	0.016	1.385	0.038	0.413	0.007	m
8A	0.564	0.048	0.435	0.016	0.999	0.032	1.308	0.159	0.436	0.030	m
9A	0.548	0.032	0.451	0.000	0.999	0.032	1.214	0.071	0.452	0.015	m
10A	0.613	0.032	0.371	0.016	0.983	0.016	1.727	0.159	0.377	0.023	sm
11A	0.532	0.016	0.435	0.016	0.967	0.000	1.231	0.082	0.450	0.017	m
12A	0.500	0.016	0.467	0.016	0.967	0.032	1.071	0.002	0.483	0.001	m
13A	0.580	0.032	0.371	0.016	0.951	0.048	1.636	0.019	0.390	0.003	m
14A	0.500	0.016	0.451	0.032	0.951	0.048	1.071	0.044	0.474	0.010	m
15A	0.548	0.000	0.387	0.032	0.935	0.032	1.417	0.119	0.413	0.020	m
16A	0.467	0.016	0.435	0.016	0.903	0.032	1.077	0.003	0.482	0.001	m
17A	0.629	0.016	0.258	0.032	0.887	0.016	2.375	0.373	0.290	0.031	sm
18A	0.532	0.016	0.355	0.000	0.887	0.016	1.455	0.045	0.400	0.007	m
19A	0.467	0.016	0.387	0.000	0.854	0.016	1.167	0.042	0.453	0.009	m
20A	0.467	0.016	0.371	0.016	0.838	0.032	1.273	0.011	0.442	0.002	m
21A	0.484	0.032	0.339	0.016	0.822	0.016	1.500	0.164	0.412	0.028	m
22A	0.451	0.032	0.355	0.032	0.806	0.000	1.273	0.208	0.440	0.040	m
23A	0.419	0.000	0.371	0.048	0.790	0.048	1.182	0.150	0.467	0.033	m
24A	0.613	0.000	0.000	0.000	0.613	0.000	Infinito	NeuN	0.000	0.000	T

ANEXO 5: Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en San Pablo.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CONSTANCIA N° 224-USM-2015

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo, hojas) recibida de **Cesar Diego ORIHUELA TACURI**; alumno de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Physalis peruviana* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

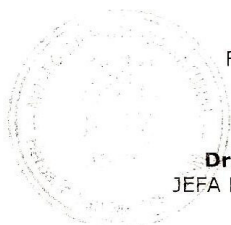
GENERO: *Physalis*

ESPECIE: *Physalis peruviana* L.

Nombre vulgar: "aguaymanto"
Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 26 de octubre de 2015




Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-C434, Lima 14, Perú

Telfs. (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

ANEXO 6: Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en Celendín.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CONSTANCIA N° 223-USM-2015

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo, hojas) recibida de **Yajahaira Nevenka CARBAJAL GONZÁLES**; alumna de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Physalis peruviana* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Physalis*

ESPECIE: *Physalis peruviana* L.

Nombre vulgar: "aguaymanto"
Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.



Fecha, 26 de octubre de 2015




Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú



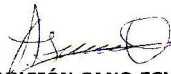
Telfs. (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

ANEXO 7: Constancia de identificación botánica de las muestras de aguaymanto colectadas en Cajabamba.

	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA MUSEO DE HISTORIA NATURAL	
"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"		
CONSTANCIA N° 222-USM-2015		
<p>LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p> <p>La muestra vegetal (tallo, hojas) recibida de Henry Angel BONILLA BRUNO; alumno de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: <i>Physalis peruviana</i> L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</p> <p>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</p> <p>SUBCLASE: ASTERIDAE</p> <p>ORDEN: SOLANALES</p> <p>FAMILIA: SOLANACEAE</p> <p>GENERO: <i>Physalis</i></p> <p>ESPECIE: <i>Physalis peruviana</i> L.</p>		
<p>Nombre vulgar: "aguaymanto" Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida.</p> <p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>		
<p>Fecha, 26 de octubre de 2015</p> <p> Dra. Haydee Montoya Terreros JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú	Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471, 470-7918, 619-7000 anexo 5703	e-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe

ANEXO 8: Constancia de identificación botánica de las muestras de *Nicandra physalodes* colectadas en Cajabamba.

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA MUSEO DE HISTORIA NATURAL</p>	
<p>"Año de la Consolidación del Mar de Grau"</p>		
<p>CONSTANCIA N° 189-SM-2016</p>		
<p>EL JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (planta completa) recibida de Yajahaira CARBAJAL GONZALES, estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas-E.A.P. Genética y Biotecnología, ha sido estudiada y clasificada como: <i>Nicandra physalodes</i> (L.) Gaertn. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</p>		
<p>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</p>		
<p>SUBCLASE: ASTERIDAE</p>		
<p>ORDEN: SOLANALES</p>		
<p>FAMILIA: SOLANACEAE</p>		
<p>GENERO: <i>Nicandra</i></p>		
<p>ESPECIE: <i>Nicandra physalodes</i> (L.) Gaertn.</p>		
<p>Nombre vulgar: s/n Determinado por Mag. Asunción Cano Echevarría</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>		
<p>Fecha, 13 de setiembre de 2016</p>		
<p> Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRIA JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
<p>DDB</p>		
<p>A. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú</p>	<p>Telfs: (511)471-0117,470-4471 470-7918, 6197000 anexo 5703</p>	<p>e-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe</p>

