

**Universidad Católica de Santa María**

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas  
y Biotecnológicas**

**Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica**



**DETERMINACIÓN DE DOSIS Y TIEMPOS DE COLCHICINA EN CULTIVO  
*IN VITRO* DE SEMILLAS DE DOS VARIEDADES DE KAÑIHUA  
(*Chenopodium pallidicaule* Aellen), Cupi e Illpa INIA 406, PARA LA  
INDUCCIÓN DE POLIPLOIDES Y SU MICROPROPAGACIÓN.**

Tesis Presentada por los Bachilleres:

**Chambi Riveros, Joselyn**

**Trelles Canaza, María Eugenia**

para optar por el Título Profesional de:

**Ingeniero Biotecnólogo**

Asesora:

**Ing. Córdova Barrios, Cinthia Carol**

**AREQUIPA - PERÚ**

**2019**

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA  
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas  
y Biotecnológicas  
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. 2018000033841

N° Trámite en Fac. 355-2017

Fecha Recep. Fac. 10-08-2017

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: **CHAMBI RIVEROS, Joselyn**  
**TRELLES CANAZA, Maria Eugenia**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

**"INDUCCION ARTIFICIAL DE POLIPLDIDIA EN DOS ECOTIPOS SAIHUA Y LASTA DE  
Chenopodium pallicaule Aellen (KAÑIHUA), PARA SU MEJORAMIENTO GENETICO"**

DICTAMINADORES: **Mgter. Roxana Bardales Álvarez** 2) **Mgter. Natalia López Álvarez**

DICTAMEN DE PLAN:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, sugerimos que el título debe cambiar a: **"EVALUACION DE LA DOSIS Y TIEMPO DE COLCHICINA EN CULTIVO IN VITRO DE SEMILLAS PARA PRODUCIR LA INDUCCION DE POLIPLDIDIA EN DOS VARIEDADES DE KAÑIHUA Chenopodium pallidicaule Aellen, Cupi e Illpa INIA406"**, después de lo cual consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente  
FIRMAS:   (Devolver antes de 8 días hábiles) FECHA

ASESOR: **Ing. Cinthia Córdova Barrios**

DICTAMEN ASESORÍA: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como asesora del trabajo de investigación presentado por las recurrentes, tengo a bien informar que luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes y debiendo cambiar el título a: **"PROPAGACION Y EVALUACION DE LA DOSIS Y TIEMPO DE COLCHICINA in vitro DE SEMILLAS PARA PRODUCIR LA INDUCCION DE POLIPLDIDIA EN DOS VARIEDADES DE KAÑIHUA (Chenopodium pallidicaule Aellen), Cupi e Illpa INIA 406"**, considero que el presente trabajo está APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad

Atentamente  
FIRMA  FECHA 05-04-19

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) **Blgo. Carlos Eitel Iván Paz Aliaga**
- 2) **Mgter. Roxana Bardales Álvarez**
- 3) **Mgter. Natalia López Álvarez**

DICTAMEN FINAL:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, atendiendo a su designación como Dictaminadores del presente Borrador de Tesis sugiriendo se cambie el título a: **"DETERMINACION DE DOSIS Y TIEMPOS DE COLCHICINA EN CULTIVO in vitro DE SEMILLAS DE DOS VARIEDADES DE KAÑIHUA (Chenopodium pallidicaule Aellen), Cupi e Illpa INIA 406, PARA LA INDUCCION DE POLIPLDIDES Y SU MICROPROPAGACION"** y luego de hechas las observaciones y correcciones pertinentes, cumpliendo con las exigencias mínimas establecidas para un trabajo de investigación de Tesis profesional, es que consideramos APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente  
FIRMA  (Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA

JURADOS: PRESIDENTE **MAG. ROXANA BARDALES ALVAREZ**  
VOCAL **BLGO. CARLOS EITEL IVAN PAZ ALIAGA**  
SECRETARIO **MAG. NATALIA LOPEZ ALVAREZ**

FECHA 24/5/19 HORA 19.00 LOCAL C-402

FIRMA DEL DECANO

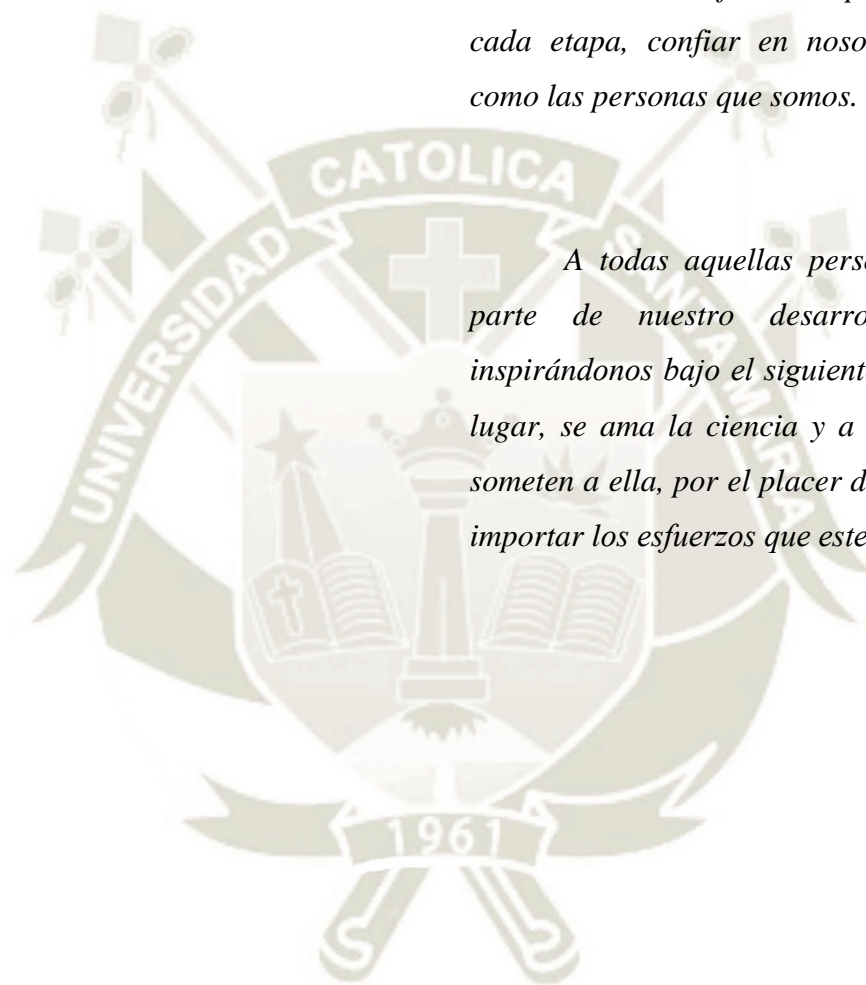
FECHA

## DEDICATORIA

*A Dios, por guiarnos y ayudarnos en cada momento de nuestras vidas, con oportunidades y desafíos.*

*A nuestras familias, por apoyarnos en cada etapa, confiar en nosotras y forjarnos como las personas que somos.*

*A todas aquellas personas que fueron parte de nuestro desarrollo académico, inspirándonos bajo el siguiente lema: “En este lugar, se ama la ciencia y a todos los que se someten a ella, por el placer de ser mejores sin importar los esfuerzos que este requiera”*



## AGRADECIMIENTOS

*A Dios, por todo su amor infinito y ponernos a muchas personas que pondrían un granito de arena en culminar este trabajo.*

*A la Dra. María Valderrama por su constante seguimiento y apoyo brindado compartiendo sus conocimientos.*

*A la Universidad Nacional del Altiplano, en especial al Dr. Luis Olivera, por su confianza y consejos para nosotras.*

*A la Dra. Bardales, por sus consejos en este proceso.*

*A la Universidad Nacional Agraria la Molina, por permitirnos aprender mucho más y darnos la oportunidad de conocer muchos amigos, que comparten la misma pasión a la ciencia y la investigación, en especial al Ing. Jorge Eduardo Jiménez y a todo su brillante equipo de investigadores.*

*A la Ing. Cinthia Córdova, nuestra asesora, por guiarnos durante todo este proceso con buena actitud.*

*Al Dr. Ovidio Velasco Velásquez, por acompañarnos siempre en este arduo trabajo.*

*A nuestra casa de estudios, la Universidad Católica de Santa María, por ser nuestra alma mater donde nos forjamos académicamente, y al Vicerrectorado por la ayuda en el desarrollo del este proyecto de investigación.*

*Un agradecimiento especial a los encargados de laboratorio Sr. Marcos y Sra. Janeth por su paciencia y su disposición para la obtención de los diferentes insumos en el desarrollo de nuestra tesis, de igual manera un agradecimiento a nuestros amigos quienes siempre tuvieron una palabra de aliento en los momentos más críticos, y nos alentaron para culminar este trabajo.*

***De parte de María Eugenia Trelles Canaza:***

*A Julio, mi amado esposo, por su constante y entera confianza brindada, por ser un impulso en mi vida, que con amor y paciencia acompaña mis días.*

*A mi madre Jenny, porque siempre está en mis andares, por su entrega incondicional de amor y su esfuerzo completo de hacerme crecer profesional, personal y espiritualmente.*

*A mis abuelitos Fortunata y Lucio, por su entrega sublime de amor y ánimos, los amo tanto.*

***De parte de Joselyn Chambi Riveros:***

*A mis padres Jorge y Marcela, por su apoyo y comprensión constante durante mis años de estudios y el desarrollo del presente trabajo.*

*A mis hermosas hijas Aurora y Lara por ser la fuente de mi esfuerzo y todas las energías requeridas en este trabajo, gracias por ser el motor de mi vida, el motor que siempre esta encendido y dispuesto a escucharme, a entenderme y a darme un abrazo que me reconfortaba siempre.*

## INTRODUCCIÓN

La kañihua es un cultivo originario del altiplano entre Perú y Bolivia. Debido al mayor área de cultivo se dice que inicialmente fue domesticada por pobladores de la cultura Tiahuanaco, en la meseta del Collao <sup>1</sup>.

La importancia de esta planta está caracterizada por su alto valor biológico. Siendo un alimento nutracéutico, con una gran cantidad de proteínas, aminoácidos y fibra, pero a pesar de la gran cantidad de beneficios que brinda, está considerada dentro de los cultivos andinos en olvido y poco desarrollados, ya que no se tiene mucho conocimiento sobre la tecnología de cultivo *in vitro*, para desarrollar técnicas de mejora genética.

Uno de los aspectos importantes a mejorar en la kañihua es la uniformidad en la maduración del grano y su susceptibilidad al desgrane, puesto que actualmente esto origina grandes pérdidas de grano y por ende los costos de producción se incrementan, debido a esto se tiene que realizar dos y hasta tres cosechas <sup>2</sup>. Además, la naturaleza diploide de esta especie, imposibilita hacer cruzamientos con otro tipo de *Chenopodium*, ya que la mayoría de especies con las cuales se podría hacer cruzamientos para su mejoramiento son tetraploides; sumándose a esto el carente conocimiento del desarrollo de la poliploidización en la kañihua, así como los distintos efectos morfológicos de una planta y grano poliploide de kañihua limita a la población y a la comunidad científica sobre los beneficios que podría brindar esta planta y grano poliploide.

La inducción artificial de la poliploidía abre nuevas oportunidades, considerada una técnica de fitomejoramiento empleado mayormente en plantas de interés medicinal <sup>3</sup>, sin embargo, pocas especies del género *Chenopodium pallidicaule*, han sido sometidas a este tratamiento. En vista del escaso panorama desarrollado sobre la kañihua, se realizó esta investigación, todo esto con el fin de contribuir y descubrir mayores beneficios de esta planta y reducir los posibles aspectos limitantes.

## RESUMEN

La cañahua, cañihua o kañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), perteneciente al género *Chenopodium*, especie nativa de la región andina del Perú con más de 200 variedades cuyo cultivo se remonta desde hace milenios, pero que actualmente se tiene poco conocimiento y desarrollo sobre el cultivo *in vitro* de esta especie, así como su mejoramiento genético.

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivo principal determinar la dosis y tiempos de exposición de colchicina en cultivo *in vitro* de dos variedades de *Chenopodium pallidicaule* Aellen, Illpa INIA 406 y Cupi, para la inducción de poliploides y su micropropagación. La evaluación de las plántulas poliploides de kañihua cultivadas *in vitro*, se hizo empleando métodos citogenéticos y morfofisiológicos.

Para tal fin, primeramente, se determinó el método de desinfección adecuado para las semillas de kañihua para su cultivo *in vitro*, logrando un total de 98% de semillas sin contaminación, siguiendo el protocolo que combinaba en diferentes tiempos el alcohol 70%, Hipoclorito de sodio 1% y Tween-20<sup>®</sup>. Seguidamente se determinó el mejor medio de cultivo modificado, siendo el medio MS suplementado con carbón activado 1 g/L; a su vez se hizo la determinación de la concentración de los reguladores de crecimiento, obteniéndose que la mejor concentración fue 1.43  $\mu\text{M}$  de AIA y 2.22  $\mu\text{M}$  de BAP, estos pasos preliminares fueron necesarios para establecer con éxito, *in vitro*, los brotes de kañihua tratados

con colchicina. A los brotes se les aplicaron diferentes concentraciones de colchicina (0.05%, 2% y 4%) durante tres tiempos de exposición (4, 8 y 12 horas).

Posteriormente se determinó la concentración de reguladores de crecimiento para la etapa de multiplicación y enraizamiento, siendo el medio MS suplementado con 2.85  $\mu\text{M}$  de AIA y 1.43  $\mu\text{M}$  el que permitió el crecimiento de plántulas vigorosas a partir de cortes apicales y la generación de sus respectivas raíces, todo esto para con el fin de traspasar las plántulas *in vitro* de cañihua a la etapa de aclimatación.

Se determinó el número cromosómico de cañihua en condiciones normales, siendo  $2x=18$  y se obtuvo plantas tetraploides  $4x=36$  y mixoploides para las variedades Illpa INIA 406 y Cupi, con la aplicación de 0.05% y 4% de colchicina por 8 y 12 horas de exposición. Las plántulas cuyo juego de cromosomas fue duplicado presentaron particularidades morfológicas y anatómicas; menor altura de planta, mayor área foliar, densidad estomática menor, sin embargo, con estomas de mayor tamaño.

**Palabras claves:**

Kañihua, *in vitro*, colchicina, ploidía, efectos morfológicos.