

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE AGRONOMÍA**



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

“Organogénesis directa de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola  
utilizando yemas brotadas de tubérculos”.

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO  
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERA  
AGRÓNOMA

**AUTORA**

NICOLE MELANIE BONILLA VARGAS

**TUTOR**

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

**AMBATO – ECUADOR**

**2023**

**APROBACIÓN**

ORGANOGENESIS DIRECTA DE *Solanum tuberosum* L. VAR. SUPERCHOLA  
UTILIZANDO YEMAS BROTADAS DE TUBÉRCULOS.

**REVISADO POR:**

---

**Ing. Michel Leiva Mora Dr.**

**TUTOR**

**ORGANOGENESIS DIRECTA DE *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola  
UTILIZANDO YEMAS BROTADAS DE TUBERCULOS**

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:**

**FECHA**

**15/03/2023**

\_\_\_\_\_  
**PhD. Patricio Núñez.**

**PRESIDENTE TRIBUNAL**

**15/03/2023**

\_\_\_\_\_  
**Ing. Mg. Jorge Dobronski Arcos.**

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

**15/03/2023**

\_\_\_\_\_  
**Ing. Mg. David Guerrero Cando.**

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

## AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

La suscrita, **BONILLA VARGAS NICOLE MELANIE**, portadora de cédula de identidad número: 180435534-3, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “**ORGANOGENESIS DIRECTA DE *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola UTILIZANDO YEMAS BROTADAS DE TUBÉRCULOS**” es original, auténtico y personal.

En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”



Nicole BV.

---

**BONILLA VARGAS NICOLE MELANIE**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **“ORGANOGENESIS DIRECTA DE *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola UTILIZANDO YEMAS BROTADAS DE TUBÉRCULOS”**, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice copia de este informe final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o parte de él.



---

**BONILLA VARGAS NICOLE MELANIE**

## DEDICATORIA

A Dios, por concederme sabiduría y fortaleza a lo largo de mi vida y carrera. Por ser la luz que ilumina mis pasos y la esperanza que me invita a no desfallecer ante los problemas. Porque en su infinita bondad me ha regalado la vida y una familia maravillosa.

A mis amados padres, Efraín Bonilla y Luz María Vargas, por ser los cimientos en los que edifique la persona que hoy soy, los mejores compañeros, amigos y consejeros. Los que me alientan cada día a ser mejor, los que con apoyo incondicional y sacrificios me ayudan en cada etapa de mi vida.

A mis queridos hermanos, Linda y Elián, por su confianza y compañía, porque siempre creen en mí y en mis capacidades, a ustedes que no ven imposible para mí y siempre están para darme una mano y un consejo.

A mi preciado sobrino, Pablo Francisco, mi niño que, con sus ocurrencias, llegó hace ocho años a iluminar y alegrar las vidas de quienes le rodean y a enseñarme a ver la vida como él, con ternura y curiosidad.

A mis abuelos paternos, Ángel y Micaela, y maternos, Segundo y Blanca, por su cariño y apoyo en mi vida y carrera, por su ejemplo de superación y de humildad, en todo momento.

A mi segunda familia, Vicente, Olguita y Paulina, por abrirme las puertas de su hermoso hogar y acogerme como una hija suya ofreciéndome sabios consejos, comprensión, amor y ternura.

A mi amado, Oscar Gutiérrez, por ser parte de mí, compañero incondicional que me ha guiado de su mano para enseñarme lo que es la plenitud, la confianza y el amor verdadero con el pasar de los años.

A Héctor Aníbal Gutiérrez (†), porque siempre extendió su mano para ayudarme cuando más lo necesitaba, que Dios lo tenga en su Gloria.

Todos ellos, ocupan un lugar especial en mi corazón y han sido la fuente de inspiración para ser una mejor mujer, profesional y ser humano. Los amo.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios y a la Santa Virgen Dolorosa del Colegio, por brindarme sus bendiciones, dones y frutos para poder seguir adelante en cada momento de mi vida.

A mis amorosos padres Efraín y Luz María, por su ejemplo, esfuerzo y sacrificio, por enseñarme a ser mejor cada día. Han cosechado lo que han sembrado, gracias por tanto y todo, los amo mucho.

A la familia Cajas Lema, porque con su bondad y sencillez me brindaron apoyo incondicional y compañía cuando más lo necesite, infinitas gracias.

A mis mentores, Dr. Michel Leiva, Dr. Carlos Vásquez, Ing. Luciano Valle, Ing. Jorge Dobronski, Ing. Alberto Gutiérrez, Ing. Segundo Curay, Ing. Marco Pérez e Ing. Eduardo Cruz, los docentes que marcaron una huella de conocimiento inolvidable en mi memoria, muchas gracias por sus cátedras de calidad.

Al amor de mi vida, Oscar, gracias por darme alegría cuando la tristeza me invadía, paz en medio de problemas, compañía cuando se acentuaba la soledad, ánimo en momentos de cansancio, calor cuando asechaba el frío, certeza en medio de la incertidumbre y amor desde que se cruzaron nuestras vidas. Te amo como jamás imaginé que podría hacerlo.

A mis amistades, Héctor (†), Jeovanny, Mónica, Norma, Carlos, Dora, Darío, Yolanda, Martha, Inés, Anita, Susana y Jesús, que estuvieron a mi lado dándome una palabra de aliento y un consejo, gracias por enseñarme que el que no vive para servir, no sirve para vivir.

Al alma máter, Universidad Técnica de Ambato, por abrirme sus puertas y hacerme la profesional que un día soñé ser.

A todos ellos les quiero brindar mi más sincero y profundo agradecimiento por hacerme la persona empática, entusiasta, responsable, perseverante y con ganas de comerse al mundo que hoy soy.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>3</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1. Introducción</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2. Antecedentes investigativos</b> .....	<b>6</b>
<b>1.3. Categorías fundamentales</b> .....	<b>8</b>
1.3.1. Generalidades .....	8
1.3.2. Clasificación botánica .....	9
1.3.3. Organogénesis directa .....	10
Medio de cultivo MS.....	10
Reguladores de crecimiento vegetal (PGR) .....	10
Condiciones ambientales de cultivo <i>in vitro</i> .....	11
Aclimatación <i>ex vitro</i> .....	12
<b>1.4. Objetivos</b> .....	<b>13</b>
1.4.1. Objetivo general .....	13
1.4.2. Objetivos específicos.....	13
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>14</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1. Ubicación del experimento</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2. Características del lugar</b> .....	<b>14</b>



<b>2.3. Equipos y materiales</b> .....	<b>15</b>
2.3.1. Material experimental.....	15
2.3.2. Equipos.....	15
2.3.3. Materiales.....	15
<b>2.4. Factores de estudio</b> .....	<b>17</b>
2.4.1. Objetivo N.º 1: Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.....	17
2.4.2. Objetivo N.º 2: Establecer <i>in vitro</i> yemas de tubérculos brotados. ....	17
2.4.3. Objetivo N.º 3: Inducir formación de nuevos tallos y hojas (Multiplicación). ....	17
2.4.4. Objetivo N.º 4: Enraizar los nuevos brotes multiplicados.....	18
2.4.5. Objetivo N.º 5 Aclimatizar en condiciones <i>ex vitro</i> las plantas multiplicadas. ....	18
<b>2.5. Diseño experimental</b> .....	<b>18</b>
<b>2.6. Manejo del experimento</b> .....	<b>19</b>
2.6.1. Objetivo 1. Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.....	19
2.6.2. Objetivo 2. Establecer <i>in vitro</i> yemas de tubérculos brotados. ....	23
.....	23
2.6.3. Objetivo 3. Inducir formación de nuevos tallos y hojas <i>in vitro</i> . ....	29
2.6.4. Objetivo 4. Enraizar los nuevos brotes multiplicados <i>in vitro</i> . ....	33
2.6.5. Objetivo 5. Aclimatizar en condiciones <i>ex vitro</i> las plantas multiplicadas.....	35
<b>2.7. Tratamientos</b> .....	<b>39</b>
2.7.1. Objetivo N.º 1: Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.....	39
2.7.2. Objetivo N.º 2: Establecer <i>in vitro</i> yemas de tubérculos brotados. ....	39

2.7.3.	Objetivo N.º 3: Inducir formación de nuevos tallos y hojas.....	40
2.7.4.	Objetivo N.º 4: Enraizar los nuevos brotes multiplicados.....	42
2.7.5.	Objetivo N.º 5 Aclimatizar en condiciones <i>ex vitro</i> las plantas multiplicadas. .	43
<b>2.8.</b>	<b>Variables respuesta .....</b>	<b>44</b>
<b>2.9.</b>	<b>Procesamiento de la información.....</b>	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO III.....</b>		<b>46</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>46</b>
<b>3.1.</b>	<b>Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.....</b>	<b>46</b>
3.1.1.	Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola.....	46
<b>3.2.</b>	<b>Establecer <i>in vitro</i> yemas de tubérculos brotados. ....</b>	<b>52</b>
3.2.1.	Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento <i>in vitro</i> de brotes de tubérculos. ....	52
<b>3.3.</b>	<b>Inducir formación de nuevos tallos y hojas. ....</b>	<b>60</b>
3.3.1.	Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola. ....	60
3.3.2.	Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola. ....	67
<b>3.4.</b>	<b>Enraizar los nuevos brotes multiplicados. ....</b>	<b>73</b>
3.4.1.	Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola. ....	73
3.4.2.	Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola. ....	81
<b>3.5.</b>	<b>Aclimatizar en condiciones <i>ex vitro</i> las plantas multiplicadas. ....</b>	<b>88</b>

3.5.1. Influencia de la Mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola. .88

**CAPITULO IV .....94**

**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....94**

**4.1. Conclusiones .....94**

**4.2. Recomendaciones .....95**

**MATERIALES DE REFERENCIA .....96**

**4.3. Referencias Bibliográficas .....96**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Clasificación botánica de la papa Solanum tuberosum L.</i> .....	9
<b>Tabla 2</b> <i>Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición en la fase de inducción de la brotación de yemas a partir de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola</i> .....	39
<b>Tabla 3</b> <i>Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en la fase de establecimiento in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola</i> .....	40
<b>Tabla 4</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN en la fase de multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.</i> .....	41
<b>Tabla 5</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP en la fase de multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.</i> .....	41
<b>Tabla 6</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA en la fase de enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.</i> .....	42
<b>Tabla 7</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA en la fase de enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.</i> .....	43
<b>Tabla 8</b> <i>Influencia de la Mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena en la fase de aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de S. tuberosum Var. Superchola.</i>	43

<b>Tabla 9</b> <i>Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre el número de yemas brotadas de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días. ....</i>	47
<b>Tabla 10</b> <i>Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre el porcentaje de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con yemas brotadas a los 7, 14 y 21 días. ....</i>	48
<b>Tabla 11</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de medio de cultivo MS sobre el porcentaje de contaminación in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días. ....</i>	53
<b>Tabla 12</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de medio de cultivo MS sobre el porcentaje de establecimiento in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días. ....</i>	54
<b>Tabla 13</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 7 días de establecido el ensayo. ....</i>	62
<b>Tabla 14</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 14 días de establecido el ensayo. ....</i>	63
<b>Tabla 15</b> <i>Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y</i>	

*número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 21 días de establecido el ensayo. ....64*

**Tabla 16** *Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 7 días de establecido el ensayo. ....68*

**Tabla 17** *Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 14 días de establecido el ensayo. ....69*

**Tabla 18** *Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 21 días de establecido el ensayo. ....70*

**Tabla 19** *Influencia del ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. Var Superchola a los 7 días de establecido el ensayo. ....75*

**Tabla 20** *Influencia del ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 14 días de establecido el ensayo. ....76*

<b>Tabla 21</b> <i>Influencia del ácido <math>\alpha</math>-naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 21 días de establecido el ensayo. ....</i>	77
<b>Tabla 22</b> <i>Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 7 días de establecido el ensayo. ....</i>	82
<b>Tabla 23</b> <i>Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 14 días de establecido el ensayo. ....</i>	83
<b>Tabla 24</b> <i>Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 21 días de establecido el ensayo. ....</i>	84
<b>Tabla 25</b> <i>Influencia de la composición de diferentes sustratos elaborado con turba, perlita y arena sobre los parámetros supervivencia (%), número de entrenudos, número de hojas y grado de salida del cepellón en la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7 días de trasplantadas. ....</i>	89

**Tabla 26** *Influencia de la composición de diferentes sustratos elaborado con turba, perlita y arena sobre los parámetros supervivencia (%), número de entrenudos, número de hojas y grado de salida del cepellón en la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 14 días de trasplantadas.....90*



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Esquemas de las actividades correspondientes al protocolo para la desinfección de tubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i> y preparación de las diferentes concentraciones del agente inductor AG3 para la brotación de yemas en tubérculos ...</i>	22
<b>Figura 2</b> <i>Esquema de las actividades correspondientes al Protocolo para la desinfección de yemas brotadas de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i> en la etapa de establecimiento in vitro. ....</i>	24
<b>Figura 3</b> <i>Esquemas de las actividades realizadas para la preparación de medios con distintos porcentajes de medio de cultivo MS y manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar para el establecimiento in vitro de brotes de tubérculos. ....</i>	28
<b>Figura 4</b> <i>Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia de las citoquininas KIN y 6-BAP sobre la multiplicación in vitro de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i>.....</i>	32
<b>Figura 5</b> <i>Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia de las auxinas ANA y AIA sobre el enraizamiento in vitro de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i>... </i>	34
<b>Figura 6</b> <i>Esquemas de las actividades correspondientes a los protocolos de desinfección de almacigueras para la aclimatización ex vitro y de plantas micropropagadas in vitro de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i>.....</i>	36
<b>Figura 7</b> <i>Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia la mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de <i>S. tuberosum</i> Var. <i>Superchola</i>. ....</i>	38

<b>Figura 8</b> <i>Yemas brotadas en tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con distintas concentraciones de AG3: 1 ppm AG3 x 1 min (T1), 2 ppm AG3 x 1 min (T2), 3 ppm AG3 x 1 min (T3) 1 ppm AG3 x 2 min (T4), 2 ppm AG3 x 2 min (T5), 3 ppm AG3 x 2 min (T6), 1 ppm AG3 x 3 min (T7), 2 ppm AG3 x 3 min (T8), 3 ppm AG3 x 3 min (T9) y un Control sin AG3.</i> .....	49
<b>Figura 9</b> <i>Yemas de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con distintas concentraciones de AG3 brotados en turba los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	50
<b>Figura 10</b> <i>Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 100% a los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	55
<b>Figura 11</b> <i>Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 75% a los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	56
<b>Figura 12</b> <i>Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 50% a los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	57
<b>Figura 13</b> <i>Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 25% a los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	58
<b>Figura 14</b> <i>Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro sin MS a los 7 días (A) y 21 días (B).</i> .....	59
<b>Figura 15</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con diferentes concentraciones de la citoquinina KIN (2 y 4 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.</i> .....	65

<b>Figura 16</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con una concentración de 6 mg/L de KIN y control sin KIN a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	66
<b>Figura 17</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con diferentes concentraciones de 6-BAP (1 mg/L y 2 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	71
<b>Figura 18</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con una concentración de 3 mg/L de BAP y control sin BAP a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	72
<b>Figura 19</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum L. Var. Superchola enraizados in vitro con diferentes concentraciones de ANA (0,005 y 0,01 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	78
<b>Figura 20</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum L. Var. Superchola enraizados in vitro con una concentración de 0,02 mg/L de ANA y control sin ANA a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	79
<b>Figura 21</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola enraizados in vitro con diferentes concentraciones de AIA (0,6 y 0,4 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	85
<b>Figura 22</b> <i>Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola enraizados in vitro con una concentración de 0,02 mg/L de AIA y control sin AIA a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.....</i>	86

**Figura 23** *Plántulas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola aclimatizadas ex vitro en diferentes mezclas de proporciones de turba, perlita y arena (3:3:1 y 3:1:3) a los 7 días (A) y 14 días (B) de trasplantadas .....91*

**Figura 24** *Plántulas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola aclimatizadas ex vitro en la mezcla de proporciones de turba, perlita y arena (1:3:3) y en un control de turba con arena (4:1) a los 7 días (A) y 14 días (B) de trasplantadas.....92*

## RESUMEN

El presente estudio se desarrolló con el fin de establecer un método de micropropagación vía organogénesis directa de plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola a partir de la inducción de brotación de yemas, establecimiento, multiplicación, enraizamiento (*in vitro*) y posterior aclimatización *ex vitro*. En la inducción de brotación de yemas se evaluó el número de yemas brotadas y el porcentaje de tubérculos con yemas brotadas. Para el establecimiento *in vitro*, se compararon diferentes concentraciones de medio de cultivo MS con respecto al porcentaje de establecimiento y contaminación. En la etapa de multiplicación, se analizó la influencia de KIN y 6-BAP sobre el número de hojas, altura, número de brotes y número de yemas axilares. En la fase de enraizamiento, se evaluó la influencia de ANA y AIA sobre el número y longitud promedio de raíces aéreas y sumergidas. Para la etapa de aclimatización *ex vitro*, se analizaron mezclas de turba, perlita y arena con respecto a variables como porcentaje de supervivencia, número de entrenudos, número de hojas y grado de salida del cepellón. En la fase de inducción, no existieron diferencias entre las concentraciones de AG3 y el tiempo de inmersión al igual que en la fase de establecimiento, aunque el menor porcentaje de contaminación se obtuvo con 100% de MS y 50% de MS; el mayor porcentaje de establecimiento fue con el 100% de MS. En la fase de multiplicación *in vitro*, las concentraciones de 2 mg/L y 4 mg/L de kinetina aumentaron los valores de todas las variables a los 7 días. Con respecto a las concentraciones de 6-BAP, las concentraciones con 2 mg/L y 3 mg/L de 6-BAP influyeron positivamente en todas las variables excepto en el número de brotes. En la fase de enraizamiento, no existieron diferencias entre las concentraciones de AIA y para ANA solo hubo influencia de las concentraciones 0,01 mg/L y 0,02 mg/L para la variable número de raíces aéreas. Finalmente, en la etapa de aclimatización *ex vitro*, no existieron diferencias entre las distintas mezclas turba+ perlita + arena. Con los resultados de la presente investigación se estableció un método de micropropagación de plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola utilizando yemas brotadas de tubérculos mediante organogénesis directa, en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

**Palabras clave:** aclimatización *ex vitro*, enraizamiento *in vitro*, establecimiento, multiplicación, yemas brotadas.

## ABSTRACT

The present study was developed in order to establish a method of micropropagation via direct organogenesis of plants of *S. tuberosum* L. Var. Superchola from bud sprouting induction, establishment, multiplication, rooting (in vitro) and subsequent ex vitro acclimatization. For bud break induction, the number of sprouted buds and the percentage of tubers with sprouted buds were evaluated. For in vitro establishment, different concentrations of MS culture medium were compared with respect to the percentage of establishment and contamination. In the multiplication stage, the influence of KIN and 6-BAP on the number of leaves, height, number of shoots and number of axillary buds was analyzed. In the rooting stage, the influence of ANA and AIA on the number and average length of aerial and submerged roots was evaluated. For the ex-vitro acclimatization stage, mixtures of peat, perlite and sand were analyzed with respect to variables such as survival percentage, number of internodes, number of leaves and degree of root ball emergence. In the induction phase, there were no differences between AG3 concentrations and immersion time as in the establishment phase, although the lowest percentage of contamination was obtained with 100% DM and 50% DM; the highest percentage of establishment was with 100% DM. In the in vitro multiplication phase, concentrations of 2 mg/L and 4 mg/L kinetin increased the values of all variables at 7 days. With respect to 6-BAP concentrations, concentrations with 2 mg/L and 3 mg/L 6-BAP positively influenced all variables except number of shoots. In the rooting stage, there were no differences between AIA concentrations and for ANA there was only influence of the concentrations 0.01 mg/L and 0.02 mg/L for the variable number of aerial roots. Finally, in the ex-vitro acclimatization stage, there were no differences between the different peat + perlite + sand mixtures. With the results of the present investigation, a method for micropropagation of plants of *S. tuberosum* L. Var. Superchola using buds sprouted from tubers by direct organogenesis, in the Plant Biotechnology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato.

**Key words:** ex vitro acclimatization, establishment, in vitro rooting, multiplication, sprouted buds.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Introducción

El cultivo de papa *Solanum tuberosum* L., se considera uno de los más importantes luego del trigo, maíz y arroz, contribuyendo de manera crucial a la alimentación y a la seguridad alimentaria con más de doscientas especies en todo el mundo. Su rendimiento potencial es el doble de los cereales y produce más energía comestible, proteína y materia seca por unidad de área y tiempo que muchos cultivos alimentarios. Su valor biológico corresponde al 71% de un huevo entero, superando al trigo, maíz, guisantes, frijoles y comparable al de la leche (**Pandey et al., 2005**).

En la región interandina del Ecuador es un cultivo no solo de importancia nutricional sino económica y social. El INEC expone que luego del maíz duro seco y el arroz en cáscara, la papa es el cultivo transitorio de mayor producción a nivel nacional en el país, cada año el total de superficie sembrada del cultivo de papa comprende alrededor de 21 mil hectáreas, con una producción que alcanza las 48 mil Tm (toneladas métricas) anuales y que aproximadamente 42 mil familias se dedican a este cultivo (**INEC, 2019**).

Hoy en día la producción y cosecha próspera de la papa alrededor del mundo está dada por factores clave como la pureza de cultivares y tubérculos – semilla sanos o certificados. El uso de tubérculos semilla en la propagación convencional aumenta de manera considerable el riesgo a enfermedades presentes en la temporada de cultivo anterior, haciendo que la mayoría de agricultores den mayor importancia a la calidad y vigor de esas semillas (**Aksoy et al., 2021**).

El principal problema del cultivo de papa en todo el mundo son las pérdidas económicas generadas por el tizón tardío “*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary” que llega a destruir en dos semanas un cultivo de papa gracias a condiciones húmedas. Este y otros patógenos, invaden debido a condiciones adversas en las que se encuentran el cultivo, pueden dispersarse a través del suelo, agua, lluvia o viento, y, finalmente, llegar al stock de semillas, limitando así la producción (**Badoni & Chauhan, 2010**).

Gracias a los avances de la biotecnología convencional y moderna la micropropagación mediante técnicas de cultivo de tejidos, surge como alternativa para satisfacer las necesidades de consumo mundial de papa (*Solanum tuberosum* L.). Esta herramienta indispensable en la agricultura moderna permite sustituir los métodos de la agricultura convencional que presentan una lista de desventajas como alto riesgo a enfermedades y una disminuida tasa de multiplicación (**Hajare et al., 2021**).

Actualmente, el método de micropropagación cuenta con diferentes protocolos de regeneración como: organogénesis directa, organogénesis indirecta (necesita la etapa de formación de callos) embriogénesis cigótica, embriogénesis somática y mediante regeneración a partir de suspensiones celulares embriogénicas. Todos estos direccionados a generar una gran cantidad de clones a partir de un mismo explante, seleccionar rasgos deseables, reduciendo la cantidad de espacio requerido para ensayos de campo y tener control sobre enfermedades con ayuda de técnicas de asepsia (**Mohapatra y Batra, 2017**).

En los últimos años se ha evidenciado que la técnica de cultivo de tejidos económicamente más exitosa es la micropropagación, especialmente para especies altamente heterocigotas como la papa, uno de los sistemas de regeneración se puede efectuar a través de, la organogénesis directa a partir de explantes, se considera la mejor opción para una multiplicación rápida. Las plántulas se desarrollan directamente sin la fase de callo, por lo que las posibilidades de variación somaclonal son mínimas en las plantas regeneradas (**Verma et al., 2021**).



Considerando lo anteriormente expuesto, el objetivo de la presente investigación es desarrollar una guía eficiente para la propagación *in vitro* vía organogénesis directa de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola utilizando como explantes yemas brotadas de tubérculos, para lo cual se utilizó distintas concentraciones de reguladores de crecimiento de las plantas (PGR), medio de cultivo y agar. A través de un conveniente seguimiento de protocolos y técnicas eficaces para la esterilización de explantes, se prevé una próspera brotación, multiplicación, enraizamiento y posterior aclimatación de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

## 1.2. Antecedentes investigativos

**Alexopoulos et al. (2017)**, mediante su artículo titulado “Effect of Gibberellic Acid on the Growth Rate and Physiological Age of Tubers Cultivated from True Potato Seed” expusieron que, aplicaciones foliares únicas de 100 ppm de AG3 (ácido giberélico) en cinco etapas diferentes del desarrollo de la planta de papa, influyeron activamente en la inducción de yemas y crecimiento de los tubérculos, inhibiendo así, la latencia de los mismos independientemente de la temporada.

**Xhulaj y Gixhari (2018)**, en su trabajo investigativo “*In vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L). Cultivars”, señalaron que, todos sus explantes inoculados en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog) preparado con sacarosa al 3% y agar al 0,6% en la fase de propagación *in vitro*, reaccionaron positivamente dando resultados satisfactorios para la tasa de multiplicación y para producir un número efectivo de explantes de los cultivares de papa Excuisita y Bergerac en medio de cultivo MS.

**Liljana et al. (2012)**, en su artículo “Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L” explicaron que, explantes iniciales de los cultivares Agrija y Andrea fueron cultivados en medio semisólido (MS) suplementado con citoquininas en una concentración de 4 mg/L<sup>-1</sup> de KIN y 2 mg/L<sup>-1</sup> de 6-BAP en diferentes ensayos para evaluar la mayor formación de brotes, raíces y desarrollo de plántulas. En los medios probados, el cultivar Agrija evidenció el mayor potencial de micropropagación *in vitro*.

**Hajare et al. (2021)**, en su artículo de investigación “Effect of Growth Regulators on *in vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete varieties from Ethiopia”, manifestaron que, la mejor iniciación de brotes en número y longitud, se obtuvo en el medio de cultivo MS suplementado con una concentración de 1.5 mg/L a 2 mg/L de la citoquinina 6-BAP para la variedad Gudiene.

**Badoni y Chauhan (2010)**, en su trabajo titulado “Conventional vis -a- vis Biotechnological Methods of Propagation in Potato: A Review”, explicaron que, explantes de papa del cultivar Kufri Himalini, fueron establecidas en medio de cultivo MS suplementado con distintas combinaciones hormonales de AG3 y ANA para la regeneración *in vitro* y posterior enraizamiento; los medios que tenían concentraciones altas como 0,03 mg/L de la auxina ANA inhibían el crecimiento de raíces y brotes en el desarrollo *in vitro* de las plántulas, mientras que, una concentración más baja de 0.01 mg/L de ANA combinada con 0.1 mg/L de AG3 favorecieron la formación de brotes y raíces.

**Omer y Idris (2021)**, en su investigación “One Step *in vitro* Propagation and Production of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Minitubers Using Different Concentrations of Indole 3-acetic acid and Kinetin”, evaluaron distintas concentraciones de la auxina AIA en medio de cultivo MS, durante la fase de enraizamiento de las variedades de papa Zafera y Mondial. El mayor número de raíces se obtuvo cuando la concentración de AIA fue de 0.4 mg/L y menor cuando fue de 0.1 mg/L, además de que se alcanzaron tasas de supervivencia del cien por ciento.

**Othman et al. (2016)**, en su estudio “*In vitro* Propagation and *Ex vitro* Acclimatization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Using Nodal Cutting Explants”, experimentaron con diferentes concentraciones de hormonas y sus combinaciones en la micropropagación de plántulas de dos cultivares certificados de papa Lady Balfour y Bellini, para que, luego de ser establecidas, multiplicadas y enraizadas, se aclimataran en condiciones *ex vitro*. Con respecto al protocolo de aclimatación, en primer lugar, eliminaron el medio solidificado con agua corriente y sumergieron las plántulas en una solución de 1g/l de Rizolex – T50 WP y agua durante 25 segundos, luego las trasplantaron en macetas plásticas de 10 cm con diferentes mezclas autoclavadas de sustratos para finalmente evaluar variables como formación de nuevas ramas por planta, altura media de la planta y porcentaje de supervivencia por planta. Así, concluyeron que la mezcla de perlita, turba y arena en proporción 3:3:1 fue el sustrato que más aprovechó y creó características favorables de crecimiento vegetal, mejor retención de agua, niveles de pH, aireación etc.

### 1.3. Categorías fundamentales

#### 1.3.1. Generalidades

El centro de diversidad y origen de la papa son los Andes Centrales, se cree que el primer cultivo de papa comenzó alrededor del lago Titicaca (actual Bolivia y Perú) a una altura de 3800 m (12500 pies) alrededor del año 8000 a.c. Se han documentado dos centros de diversidad para papas silvestres; América del Norte y Central (centro mexicano) y América del Sur (centro andino, que se extiende desde Venezuela hasta Chile) (**Hijmans et al., 2007**).

La papa de nombre científico *Solanum tuberosum* L. es una planta herbácea dicotiledónea reconocida como tubérculo. Se la considera también como planta perenne por su capacidad para reproducirse a partir de tubérculos, pero, debido a las prácticas de cultivo en la mayor parte del mundo se la usa como una planta anual. El tubérculo es el órgano de importancia económica, rico en hidratos de carbono, crece debajo de la tierra a lo largo de tallos modificados llamados estolones. Aunque las papas producen semillas verdaderas, los tubérculos se utilizan como la forma dominante de propágulos (**Bradeen y Haynes, 2011**).

Las hojas de papa son pinnadas compuestas y crecen en tallos sobre el suelo que tienden a tener menos de un metro de largo. El tamaño y la forma de las hojas varía según la temperatura y la duración del día. Las flores varían en color de violeta a rosado hasta blanco. Son hipóginas con simetría radial y coloras pentalobuladas unidas. El fruto es una pequeña baya circular que contiene las verdaderas semillas desarrolladas después de la fertilización. La verdadera semilla de papa tiene un diámetro de 1 a 2 mm con forma ovalada y color canela (**Aksoy et al., 2021**).

### 1.3.2. Clasificación botánica

La papa es un miembro de la familia de las solanáceas. Esta familia está compuesta por 95 géneros e incluye el género *Solanum*, al que pertenece la papa, que representa el miembro más grande y de mayor importancia económica. Se estima que hay entre 1000 y 1700 especies dentro del género *Solanum*, incluidas más de 230 especies conocidas de papas silvestres en América Central y del Sur. Estas especies no comestibles son los ancestros originales de la papa cultivada de hoy (Aksoy et al., 2021).

**Tabla 1**

*Clasificación botánica de la papa Solanum tuberosum L.*

<b>Clasificación botánica</b>	
<b>Familia</b>	Solanáceas
<b>Subfamilia</b>	Solanoideae
<b>Tribu</b>	Solaneae
<b>Género</b>	<i>Solano</i> L.
<b>Subgénero</b>	Patata (G. Don) D'Arcy Petota
<b>Sección</b>	Dumortier
<b>Subsección</b>	Patata G. Don
<b>Superserie</b>	Rotata Hawkes
<b>Serie</b>	Tuberosa (Rybd.) Hawkes
<b>Especies</b>	<i>Solanum tuberosum</i> L.
<b>Subespecie</b>	<i>tuberosum</i>

**Fuente:** (Aksoy et al., 2021).

### **1.3.3. Organogénesis directa**

Es la regeneración *in vitro* de una planta donde primeramente se forma un brote adventicio, seguido por el desarrollo de raíces a partir del brote y finalmente se desarrolla una planta completa. Durante la organogénesis del brote *in vitro*, el meristemo inicia a partir de células somáticas diferenciadas e involucra tres aspectos: respuesta hormonal de células somáticas, división celular y el inicio y desarrollo de nuevos brotes a partir de las células recién divididas de forma directa (**Zhang y Lemaux, 2004**).

### **Medio de cultivo MS**

El medio basal MS (Murashige y Skoog, 1962) consta de sales minerales, vitaminas, aminoácidos, azúcares y demás compuestos orgánicos. Es el más utilizado en la micropropagación de especies de plantas herbáceas como el cultivo de papa (**Thayamini, 2013**).

### **Reguladores de crecimiento vegetal (PGR)**

Son moléculas orgánicas difusibles que regulan los procesos de crecimiento y desarrollo en las plantas, efectivas en bajas concentraciones internas. Se agrupan en varias categorías según su estructura, a continuación, se describen las utilizadas en la presente investigación:

- **Auxinas**

Familia de sustancias químicas que regulan el crecimiento, la división celular y la diferenciación de raíces en los cultivos *in vitro*. Intervienen en el tropismo a la gravedad y a la luz, la dominancia apical, el crecimiento de las partes florales y la diferenciación de los tejidos vasculares. Las auxinas usadas comúnmente son el AIA (ácido indol-3-acético), el ANA (ácido  $\alpha$ -naftalenacético), el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) y el AIB (ácido indolbutírico) (**Llorente, 2005**).

- **Citoquininas**

Las funciones de las citoquininas en las plantas implican una coordinación compleja a través de una red diversa de mecanismos que dan como resultado la regulación de muchos procesos fisiológicos como la ramificación de los brotes axilares, la ruptura de la dominancia apical, el patrón de células meristemáticas de la raíz y la producción de raíces laterales. Son derivados de la adenina que promueven la división celular en las plantas. Entre ellas destacan: BA (bencil adenina), K (kinetina o 6 furfural aminopurina), Zea (zeatina) y 2-iP (N-isopentenil adenina). Las dos primeras son citoquininas sintéticas y las dos últimas naturales (**Aremu et al., 2020**).

- **Giberelinas**

Las giberelinas (AG3), son hormonas vegetales que regulan el crecimiento e influyen en varios procesos de desarrollo incluyendo elongación del tallo, germinación, latencia, floración, expresión sexual, inducción de enzimas y senescencia de hojas y frutos. Las giberelinas (AG3), constituyen una familia de compuestos tetracíclicos diterpenoides que también funcionan como inductores de yemas y brotes en su forma AG3 (ácido giberélico) (**Ghosh y Halder, 2018**).

### **Condiciones ambientales de cultivo *in vitro***

Los cultivos de tejidos vegetales se deben conservar en condiciones ambientales similares a las naturales más favorables. La luz, la temperatura y la humedad relativa son los factores más esenciales del ambiente que influyen sobre los cultivos. El comportamiento de estos se encuentra supeditado de la calidad, intensidad y fotoperíodo de la luz que perciben. Muchas enzimas que intervienen en el desarrollo y en el metabolismo secundario son afectadas por la luz. La mayoría de los cultivos se desarrollan a una intensidad luminosa entre 5 a 25 W/m<sup>2</sup> (1000 a 5000 lux). Si bien la calidad de la luz puede determinar diferentes respuestas morfogénicas, en general se utiliza luz blanca, pobre en longitudes de onda larga. El fotoperíodo habitualmente utilizado es de 16 horas

de luz y 8 horas de oscuridad. La temperatura de las cámaras de cultivo se regula en general entre 22 y 28°C, permitiendo así el desarrollo tanto de especies de climas templados como de plantas tropicales. Es de destacar que, durante el período de luz, la temperatura en el interior de los frascos de cultivo es 1-2°C superior a la de la cámara, debido al efecto invernadero; es así como se crea un termo período suave. La humedad relativa se mantiene alrededor del 70% **(Llorente, 2005)**.

### **Aclimatación *ex vitro***

Las condiciones de invernadero y campo se caracterizan por una intensidad de luz muy alta y una humedad baja, pero los ambientes en los contenedores de cultivo tienen una intensidad de luz baja y una humedad muy alta. Dadas esas circunstancias, las plántulas *in vitro* deben transferirse con sumo cuidado a condiciones *ex vitro* y posteriormente al campo debido a los cambios progresivos en las condiciones ambientales y también en la morfología de las plántulas **(Thayamini, 2013)**.

En la etapa de aclimatación, la asepsia de las plántulas y los sustratos es un factor clave para su establecimiento. La mezcla de proporciones variables como perlita, turba (peat moss) y arena (3:3:1) puede designarse para aprovechar las características positivas de cada sustrato y sus interacciones con el fin de crear características óptimas de crecimiento vegetal **(Othman et al., 2016)**.



## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

Establecer un método de micropropagación de plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola utilizando yemas brotadas de tubérculos mediante organogénesis directa.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

1. Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.
2. Establecer *in vitro* yemas de tubérculos brotados.
3. Inducir formación de nuevos tallos y hojas *in vitro*.
4. Enraizar los nuevos brotes multiplicados.
5. Aclimatizar en condiciones *ex vitro* las plantas multiplicadas.

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1. Ubicación del experimento**

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal que está ubicado en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato, campus Querochaca en el Cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua.

#### **2.2. Características del lugar**

La micropropagación de plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola utilizando yemas brotadas de tubérculos mediante organogénesis directa, se ubica en el Laboratorio de Biotecnología, ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el sector el Tambo, perteneciente al cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se encuentra localizado a 2850 msnm, las coordenadas geográficas son: 01° 24' 27" de latitud Sur y 78° 35' 00" de longitud al Oeste, ubicado a 19,31 km, al Sureste de Ambato.

## **2.3. Equipos y materiales**

### **2.3.1. Material experimental**

El material experimental está constituido por tubérculos de tallo de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

### **2.3.2. Equipos**

- Microondas (PANASONYC).
- Cabina de flujo laminar (PURIFIER™ - BIOBASE).
- Refrigeradora (INDURAMA).
- Micropipetas (THERMO SCIENTIFIC).
- Autoclave (MIDMARK).
- Balanza analítica (OHAUS – Pioneer™).
- pH metro (BANTE 900).
- Destilador de agua (DIRECT – Q / MILLOPONE).

### **2.3.3. Materiales**

- Tubérculos de papa variedad Superchola.
- Bandejas (4 L).
- Frascos de vidrio (250 ml).
- Etiquetas adhesivas.
- Cucharas dosificadoras de metal.
- Regadera.
- Placas de metal.
- Mecheros de Bunsen.
- Matraz Erlenmeyer (1000 ml, 500 ml, 250 ml).
- Estantes metálicos y de vidrio.
- Papel aluminio (DIAMOND 22 m).
- Esferos (Rotring).

- Vasos de precipitación (50 ml).
- Bisturí (STAINLESS N°4).
- Hojas de bisturí N.º 23.
- Pinza metálica punta recta (STAINLESS 18 cm).
- Fundas plásticas.
- Toallas de papel (Familia).
- Marcadores permanentes (SHARPIE).
- Pipetas plásticas pequeñas (1 ml).
- Puntas para micropipetas.
- Atomizador plástico (1000 ml).
- Cofia quirúrgica.
- Bata quirúrgica.
- Zapatones desechables.
- Mascarillas (KN-95).
- Alcohol al 70%.
- Hipoclorito de sodio al 5%.
- Crema lavavajilla (Lava).
- Jabón líquido antibacterial (Protex).
- Agua desionizada.
- Medio de cultivo MS (PhytoTech).
- Agar en polvo para cultivo de tejidos vegetales (Agar Powder for tissue culture SRL).
- Sacarosa (Azúcar de mesa Juan Valdez).
- Kinetina (6-furfuril-aminopurina).
- 6-BAP (6-Bencilaminopurina) (Caisson labs).
- AIA (Ácido Indol Acético) (LOBA CHEMIE).
- ANA (Ácido 1- naftalenacético) (SIGMA).
- AG3 (Ácido giberélico) (LOBA CHEMIE).
- Ácido cítrico (SIGMA).
- Hidróxido de sodio (LOBA CHEMIE).

- Sustrato de Turba.
- Sustrato Perlita.
- Arena autoclavada.
- Bandejas de germinación (72 espacios).
- Fungicida Fosetyl aluminium.

## 2.4. Factores de estudio

**2.4.1. Objetivo N.º 1:** Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.

- **Factor N.º 1:** Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

**2.4.2. Objetivo N.º 2:** Establecer *in vitro* yemas de tubérculos brotados.

- **Factor N.º 1:** Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos.

**2.4.3. Objetivo N.º 3:** Inducir formación de nuevos tallos y hojas (Multiplicación).

- **Factor N.º 1:** Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.
- **Factor N.º 2:** Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

#### 2.4.4. **Objetivo N.º 4:** Enraizar los nuevos brotes multiplicados.

- **Factor N.º 1:** Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.
- **Factor N.º 2:** Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

#### 2.4.5. **Objetivo N.º 5** Aclimatizar en condiciones *ex vitro* las plantas multiplicadas.

- **Factor N.º 1:** Influencia de la Mezcla de turba+ Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.

### 2.5. **Diseño experimental**

Todos los ensayos realizados durante este estudio se diseñaron como un diseño de experimentos factoriales completamente aleatorizado con 10 repeticiones.

## 2.6. Manejo del experimento

### 2.6.1. Objetivo 1. Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.

En el ensayo para la inducción de yemas de tubérculos se llevaron a cabo las siguientes actividades (Figura 1).

#### Protocolo para la desinfección de tubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola



## Influencia del agente inductor AG3 para la brotación de yemas en tubérculos.

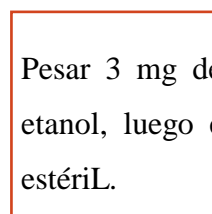


Autoclavar matraces Erlenmeyer de 1000 ml llenos de agua destilada.

Pesar 1 mg de AG3 y disolver en 1 ml de etanol, luego en 1000 ml de agua destilada estériL.



Pesar 2 mg de AG3 y disolver en 2 ml de etanol, luego en 1000 ml de agua destilada estériL.



Pesar 3 mg de AG3 y disolver en 3 ml de etanol, luego en 1000 ml de agua destilada estériL.



Para disolver el ácido giberélico (AG3) en etanol, se utiliza una Varilla de agitación.

Los matraces que contienen las distintas concentraciones de AG3 son etiquetados.







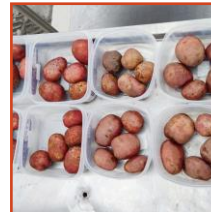
Colocar en recipientes diferentes la solución de cada matraz.

Sumergir los tubérculos de acuerdo a los tiempos de exposición establecidos (1, 2 y 3 min).



Vaciar los recipientes de la solución, de modo que queden únicamente los tubérculos.

Dejar secar los tubérculos por 24 horas.



Enumerar los tubérculos de cada tratamiento para evaluar la brotación de yemas.

Evaluar el número de yemas brotadas a los 7, 14 y 21 días.





Las yemas brotadas son cortadas y desinfectadas en una solución de NaClO al 3% por 15 min.

Sembrar las yemas en almacigueras desinfectadas con sustrato de turbanegra y rubia (spezial substrat).



**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

### **Figura 1**

*Esquemas de las actividades correspondientes al protocolo para la desinfección de tubérculos de *S. tuberosum* Var. *Superchola* y preparación de las diferentes concentraciones del agente inductor AG3 para la brotación de yemas en tubérculos.*

**2.6.2. Objetivo 2. Establecer *in vitro* yemas de tubérculos brotados.**

**Protocolo para la desinfección de yemas brotadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

Seleccionar plántulas formadas a partir de las yemas sembradas en las almacigueras luego de 15 días.



Cortar con un bisturí las yemas y separarlas en agua destilada estéril hasta su desinfección.



Retirar las impurezas adheridas a las yemas con agua de llave.

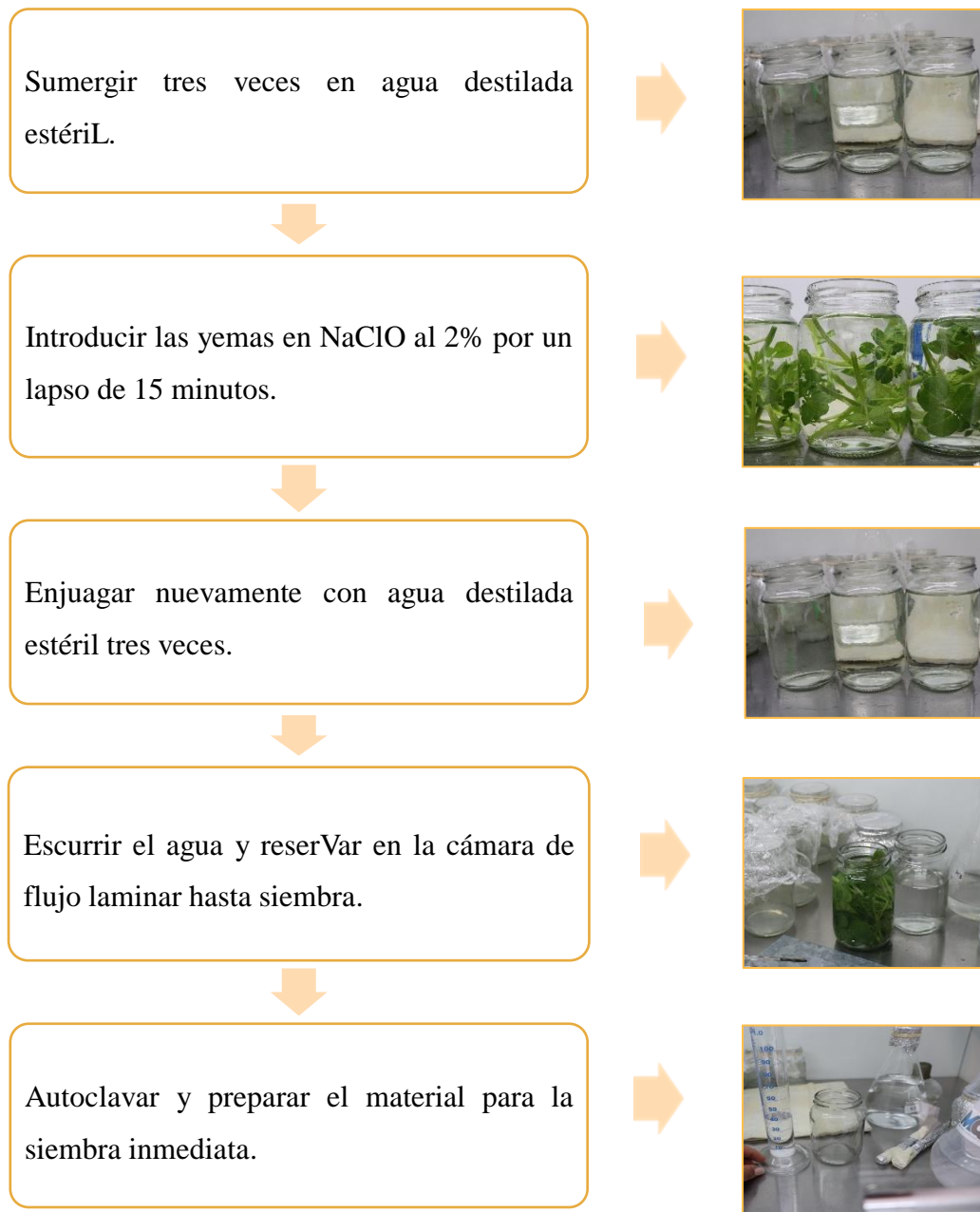


Trasladar el material vegetal a la cámara de flujo laminar.



Introducir las yemas cortadas en una solución de etanol al 70% por un lapso de 30 segundos.





**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Figura 2**

*Esquema de las actividades correspondientes al Protocolo para la desinfección de yemas brotadas de *S. tuberosum* Var. *Superchola* en la etapa de establecimiento in vitro.*

## Influencia de la composición expresada en % del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de



Colocar 250 ml de agua destilada estéril en cuatro matraces Erlenmeyer de 500 mL.

Pesar y disolver distintas concentraciones de medio de cultivo MS (4,43 g/l). Al 100% (1,1075 g), al 75% (0,8306 g), al 50% (0,5537 g) y al 25% (0,2768 g).



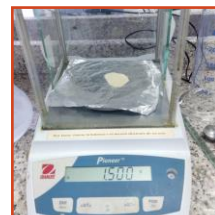
Ponderar 30 g/l de azúcar refinada (sacarosa) y diluir en cada matraz.

Aforar cada solución a 500 ml con agua destilada estéril.



Medir el pH de la solución y estabilizar en 5.9 con hidróxido de sodio o ácido cítrico.

Ponderar 7 g/l de agar para medio de cultivo e incorporar en los matraces.





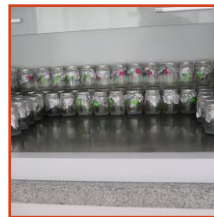
Calentar en microondas por 10 minutos hasta diluir completamente el agar y la solución esté homogeneizada.

Dispensar 20 ml de medio de cultivo preparado en cada frasco.



Cubrir la boca del frasco con papel aluminio, asegurar con ligas y etiquetar según el tratamiento.

Autoclavar los frascos con el medio de cultivo por un lapso de 45 minutos.



Almacenar los frascos en la cámara de flujo laminar hasta proceder con la siembra.

## Manejo del ensayo en la Cámara de Flujo Laminar:

### Establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos.



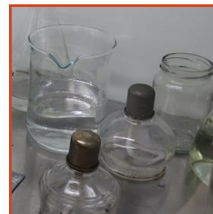
Autoclavar por 45 minutos el material necesario requerido en la siembra: pinzas metálicas, papel aluminio, frascos de vidrio, bisturí, placa de metal y agua destilada.

Desinfectar toda la superficie de la CFL (Cámara de flujo laminar) y el material autoclavado con etanol al 70% contenido en un atomizador.



Prender la luz UV de la CFL por aproximadamente 30 minutos con el material de trabajo dentro.

Apagar la luz UV y encender los mecheros de alcohol, luego llenar dos frascos de vidrio con agua destilada estéril y uno con alcohol.



Sumergir las pinzas y el bisturí en alcohol, flamearlos por algunos segundos, enfriar en el agua destilada.

Realizar cortes transversales en los brotes, de manera que se obtengan segmentos nodales con uno o dos nudos.





Retirar el aluminio y la liga del frasco que contiene el medio de cultivo, tomar el segmento nodal con la pinza y sembrarlo.

Cubrir la boca del frasco con el papel aluminio autoclavado y asegurar con una liga para mantener la asepsia.



Llevar los frascos de vidrio sembrados hacia el área de transferencia y colocar letreros con el nombre del tratamiento y la fecha de siembra.

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

### **Figura 3**

*Esquemas de las actividades realizadas para la preparación de medios con distintos porcentajes de medio de cultivo MS y manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar para el establecimiento in vitro de brotes de tubérculos.*



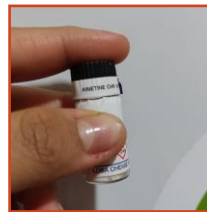
2.6.3. Objetivo 3. Inducir formación de nuevos tallos y hojas *in vitro*.

**Influencia de diferentes concentraciones de kinetina sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**



Colocar 250 ml de agua destilada estéril en cuatro matraces Erlenmeyer de 500 mL.

Pesar y disolver 4,43 g/l de medio de cultivo MS (1,1075 g) en cada matraz.



Ponderar diferentes concentraciones de citoquinina KIN (2 mg/L, 4 mg/L y 6 mg/L) y diluir en 1 ml de hidróxido de sodio para incorporar a cada matraz.

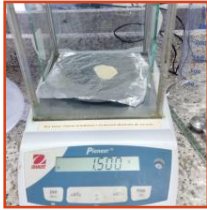
Pesar 30 g/l de azúcar refinada (sacarosa) y diluir en cada matraz.



Aforar cada solución a 500 ml con agua destilada estéril.

Medir el pH de la solución y estabilizar en 5.9 con hidróxido de sodio o ácido cítrico.





Ponderar 7 g/l de agar para medio de cultivo e incorporar en los matraces.

Calentar en microondas por 10 minutos hasta diluir completamente el agar y la solución esté homogeneizada.



Dispensar 20 ml de medio de cultivo preparado en cada frasco.

Cubrir la boca del frasco con papel aluminio, asegurar con ligas y etiquetar según el tratamiento.



Autoclavar los frascos con el medio de cultivo por un lapso de 45 minutos.

Almacenar los frascos en la cámara de flujo laminar hasta proceder con la siembra.

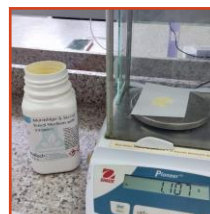


**Influencia de diferentes concentraciones de 6-BAP sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**



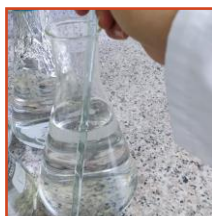
Colocar 250 ml de agua destilada estéril en cuatro matraces Erlenmeyer de 500 mL.

Pesar y disolver 4,43 g/l de medio de cultivo MS (1,1075 g) en cada matraz.



Ponderar diferentes concentraciones de citoquinina 6-BAP (1mg/L, 2mg/L y 3 mg/L) y diluir en 1 ml de hidróxido de sodio para incorporar a cada matraz.

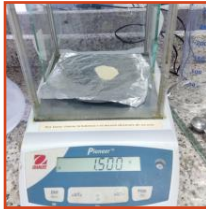
Pesar 30 g/l de azúcar refinada (sacarosa) y diluir en cada matraz.



Aforar cada solución a 500 ml con agua destilada estéril.

Medir el pH de la solución y estabilizar en 5,9 con hidróxido de sodio o ácido cítrico.





Ponderar 7 g/l de agar para medio de cultivo e incorporar en los matraces.

Calentar en microondas por 10 minutos hasta diluir completamente el agar y la solución esté homogeneizada.



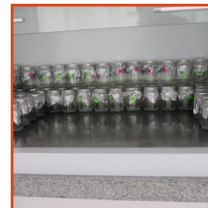
Dispensar 20 ml de medio de cultivo preparado en cada frasco.

Cubrir la boca del frasco con papel aluminio, asegurar con ligas y etiquetar según el tratamiento.



Autoclavar los frascos con el medio de cultivo por un lapso de 45 minutos.

Almacenar los frascos en la cámara de flujo laminar hasta proceder con la siembra.



**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Figura 4**

*Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia de las citoquininas*

*KIN y 6-BAP sobre la multiplicación in vitro de S. tuberosum Var. Superchola.*

2.6.4. Objetivo 4. Enraizar los nuevos brotes multiplicados *in vitro*.

**Influencia de diferentes concentraciones de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**



Colocar 250 ml de agua destilada estéril en cuatro matraces Erlenmeyer de 500 mL.

Pesar y disolver 4,43 g/l de medio de cultivo MS (1,1075 g) en cada matraz.



Ponderar diferentes concentraciones de la auxina ANA (0,005, 0,01 y 0,02 mg/L) y AIA (0,2, 0,4 y 0,6 mg/L) y diluir en 1 ml de alcohol para incorporar a cada matraz.

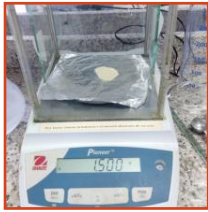
Pesar 30 g/l de azúcar refinada (sacarosa) y diluir en cada matraz.



Aforar cada solución a 500 ml con agua destilada estéril.

Medir el pH de la solución y estabilizar en 5,9 con hidróxido de sodio o ácido cítrico.





Ponderar 7 g/l de agar para medio de cultivo e incorporar en los matraces.

Calentar en microondas por 10 minutos hasta diluir completamente el agar y la solución esté homogeneizada.



Dispensar 20 ml de medio de cultivo preparado en cada frasco.

Cubrir la boca del frasco con papel aluminio, asegurar con ligas y etiquetar según el tratamiento.



Autoclavar los frascos con el medio de cultivo por un lapso de 45 minutos.

Almacenar los frascos en la cámara de flujo laminar hasta proceder con la siembra.



**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

### **Figura 5**

*Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia de las auxinas ANA y AIA sobre el enraizamiento in vitro de S. tuberosum Var. Superchola.*

**2.6.5. Objetivo 5. Aclimatizar en condiciones *ex vitro* las plantas multiplicadas.**

**Protocolo para la desinfección de almacigueras para la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

Preparar dos bandejas de germinación (almacigueras) con alveólos de 4 cm x 4 cm para su desinfección.



Disolver una taza (250 g) de lejía y 250 ml de hipoclorito de Na en una tina con 50 litros de agua embotellada.



Sumergir las almacigueras. Quitar impurezas de los alveolos con un cepillo de dientes nuevo.



**Protocolo para la desinfección de plantas micropropagadas *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

Tomar las plantas micropropagadas del área de transferencia.

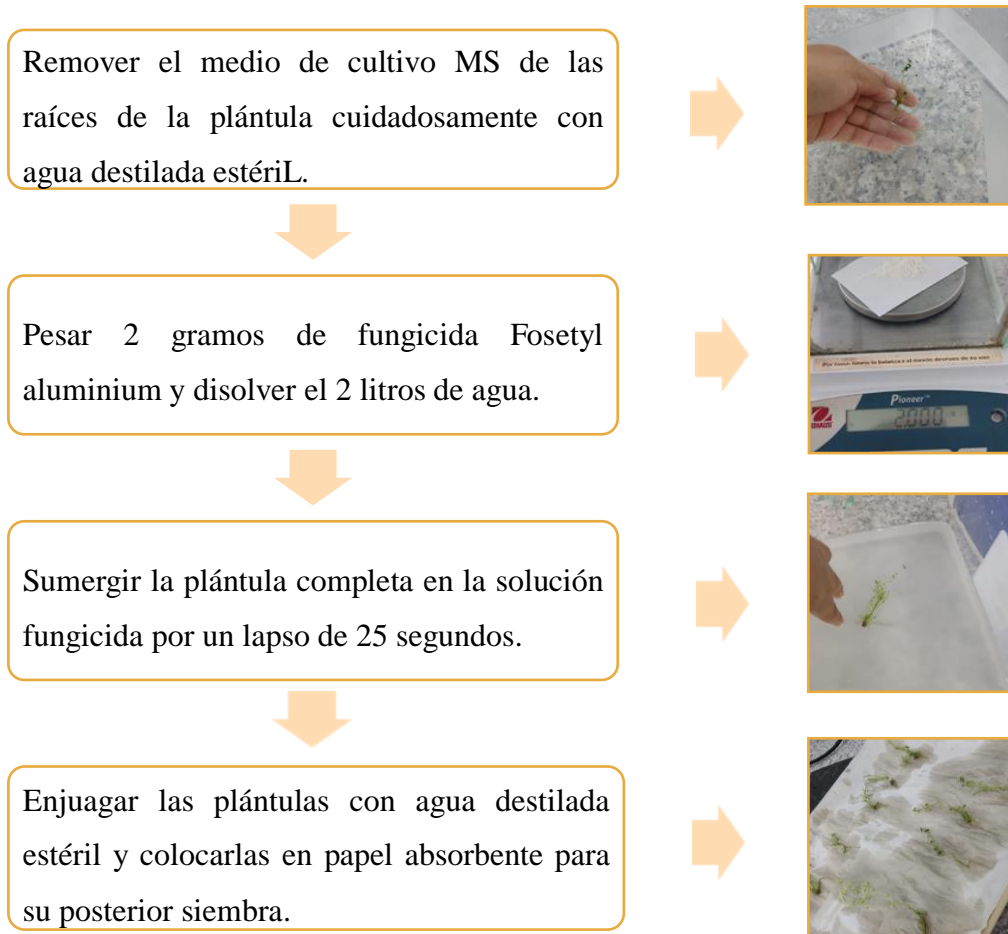


Retirar el papel aluminio y la liga que asegura la boca del frasco de vidrio.



Extraer con una espátula el medio de cultivo MS solidificado con la plántula.





**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Figura 6**

*Esquemas de las actividades correspondientes a los protocolos de desinfección de almácigueros para la aclimatización ex vitro y de plantas micropropagadas in vitro de S. tuberosum Var. Superchola.*



**Influencia de la Mezcla de turba+ Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.**



Desinfectar cuatro bandejas con una solución de NaClO al 2% para realizar las distintas mezclas de los sustratos y etiquetamos con marcador permanente según el tratamiento.

Autoclavar la perlita y la arena en matraces tapados con aluminio y asegurados con ligas por un lapso de 45 minutos.



Colocar 3 lb de turba(peat moss), 3 lb de perlita y 1 lb de arena para el primer sustrato de proporción 3:3:1.

Colocar 3 lb de turba(peat moss), 1 lb de perlita y 3 lb de arena para el segundo sustrato de proporción 3:1:3.



Colocar 1 lb de turba(peat moss), 3 lb de perlita y 3 lb de arena para el tercer sustrato de proporción 1:3:3.

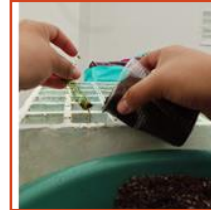
Colocar 4 lb de turba(peat moss) y 1 lb de arena para el sustrato control sin perlita de proporción 4:1.





Llenar los alveólos de la almaciguera hasta la mitad para trasplantar la planta completa.

Trasplantar la plántula y rellenar con el sustrato correspondiente nuevamente cada alveolo. .



Repetir hasta transplantar 10 plántulas por cada tipo de sustrato.

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

### **Figura 7**

*Esquemas de las actividades realizadas para determinar la influencia la mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de S. tuberosum Var. Superchola.*

La escala utilizada para la evaluación del grado de salida de cepellón en la fase de aclimatización *ex vitro* fue la siguiente:

**Grado 3:** Sale más del 75% del cepellón

**Grado 2:** Sale entre el 50-75% del cepellón.

**Grado 1:** Sale del 25-50% del cepellón.

**Grado 0:** Sale menos del 25% del cepellón.

## 2.7. Tratamientos

**2.7.1. Objetivo N.º 1:** Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.

**Factor N.º 1:** Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

**Tabla 2**

*Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición en la fase de inducción de la brotación de yemas a partir de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.*

CONCENTRACIONES DE AG3 Y TIEMPOS DE EXPOSICIÓN.			
AG3 / T1	AG3 / T2	AG3 / T3	CONTROL
1 ppm / 1 min	1 ppm / 2 min	1 ppm / 3 min	SIN AG3
2 ppm / 1 min	2 ppm / 2 min	2 ppm / 3 min	Inmersión en agua destilada estéril por 3 min.
3 ppm / 1 min	3 ppm / 2 min	3 ppm / 3 min	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**2.7.2. Objetivo N.º 2:** Establecer *in vitro* yemas de tubérculos brotados.

**Factor N.º 1:** Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.

**Tabla 3**

*Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en la fase de establecimiento in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola.*

COMPOSICIÓN EXPRESADA EN % DEL MEDIO DE CULTIVO MS	
MEDIO DE CULTIVO MS	CONTROL
100 %	
75 %	
50 %	SIN MEDIO DE CULTIVO MS
25 %	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**2.7.3. Objetivo N.º 3:** Inducir formación de nuevos tallos y hojas.

**Factor N.º 1:** Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

**Tabla 4**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN en la fase de multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.*

<b>CONCENTRACIONES DE CITOQUININA KIN</b>	
<b>KIN</b>	<b>CONTROL</b>
2 mg/L	
4 mg/L	SIN KINETINA
6 mg/L	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Factor N.º 2:** Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

**Tabla 5**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP en la fase de multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.*

<b>CONCENTRACIONES DE CITOQUININA 6-BAP</b>	
<b>6-BAP</b>	<b>CONTROL</b>
1 mg/L	
2 mg/L	SIN 6-BAP
3 mg/L	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**2.7.4. Objetivo N.º 4:** Enraizar los nuevos brotes multiplicados.

**Factor N.º 1:** Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

**Tabla 6**

*Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA en la fase de enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.*

CONCENTRACIONES DE AUXINA ANA	
ANA	CONTROL
0,005 mg/L	
0,01 mg/L	SIN ANA
0,02 mg/L	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Factor N.º 2:** Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.

**Tabla 7**

*Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA en la fase de enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola.*

<b>CONCENTRACIONES DE AUXINA AIA</b>	
<b>AIA</b>	<b>CONTROL</b>
0,6 mg/L	
0,4 mg/L	CONTROL SIN AIA
0,2 mg/L	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**2.7.5. Objetivo N.º 5** Aclimatizar en condiciones *ex vitro* las plantas multiplicadas.

**Factor N.º 1:** Influencia de la Mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.

**Tabla 8**

*Influencia de la Mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena en la fase de aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de S. tuberosum Var. Superchola.*

<b>MEZCLAS DE PROPORCIONES DE TURBA+ PERLITA + ARENA</b>	
<b>TURBA+ PERLITA + ARENA</b>	<b>CONTROL</b>
<b>3:3:1</b>	
<b>3:1:3</b>	TURBA+ARENA 4:1
<b>1:3:3</b>	

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

## 2.8. Variables respuesta

- Número de yemas brotadas.
- Porcentaje de tubérculos con yemas brotadas.
- Porcentaje de contaminación *in vitro*.
- Porcentaje de establecimiento *in vitro*.
- Número de hojas por explante.
- Altura de planta (cm).
- Número de hojas por brote.
- Número de brotes por explante.
- Número de yemas axilares por explante
- Número de raíces sumergidas.
- Longitud promedio de raíces sumergidas (cm).
- Número de raíces aéreas.
- Longitud promedio de raíces aéreas (cm).
- Porcentaje supervivencia *ex vitro*.
- Número de entrenudos.
- Número de hojas por planta.
- Grado de salida de cepellón.



## **2.9. Procesamiento de la información**

Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Para evaluar los supuestos de normalidad se utilizó la prueba de Shapiro Wilk ( $n < 50$ ). Los datos en todos los ensayos que no cumplieron con los requisitos de normalidad de ni de homogeneidad de varianza, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para saber si existían entre los tratamientos, para determinar las comparaciones múltiples entre todas las parejas existentes de tratamientos se utilizó la prueba o test de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **3.1. Inducir la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola.**

##### **3.1.1. Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola.**

Las valoraciones a los 7, 14 y 21 días de la influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola se precisó que no existieron diferencias significativas entre las concentraciones y el tiempo de inmersión de los tubérculos al determinar el número de yemas brotadas de tubérculos, sin embargo, se puede apreciar que el tratamiento con la concentración de 2 ppm durante 3 minutos obtuvo el número más alto de yemas brotadas por tubérculos, finalmente a los 21 días (**Tabla 9 y Figura 8**).

Con respecto a la variable de porcentaje de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola con yemas brotadas, se concluyó que tampoco existieron diferencias significativas entre las concentraciones y el tiempo de inmersión de los tubérculos a los 7, 14 y 21 días de establecido el ensayo, sin embargo, resultó útil para seis de las diez concentraciones usadas en las que se obtuvieron 100% de tubérculos de papa con yemas brotadas (**Tabla 10 y Figura 9**).

**Tabla 9**

*Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre el número de yemas brotadas de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE YEMAS BROTADAS DE TUBÉRCULOS					
	7 DÍAS		14 DÍAS		21 DÍAS	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>1 ppm AG3 x 1 min</b>	3,8	47,80	4,3	45,40	5,2	49,30
<b>2 ppm AG3 x 1 min</b>	3,8	45,40	4,1	39,85	5,1	46,85
<b>3 ppm AG3 x 1 min</b>	3,5	44,45	4,1	44,45	4,7	44,90
<b>1 ppm AG3 x 2 min</b>	3,7	47,65	4,2	48,20	4,7	46,65
<b>2 ppm AG3 x 2 min</b>	4,1	52,25	4,7	52,50	5,8	58,55
<b>3 ppm AG3 x 3 min</b>	3,6	45,20	4,2	47,30	4,7	45,75
<b>1 ppm AG3 x 3 min</b>	4,1	57,10	5,2	63,95	5,8	61,40
<b>2 ppm AG3 x 3 min</b>	4,6	61,90	5,6	65,65	6	60,85
<b>3 ppm AG3 x 3 min</b>	4,7	63,05	5,3	61,95	5,7	57,85
<b>Control sin AG3</b>	3,4	40,20	3,7	35,75	4,1	32,90

**Elaborado por:** Nicole Bonilla

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .

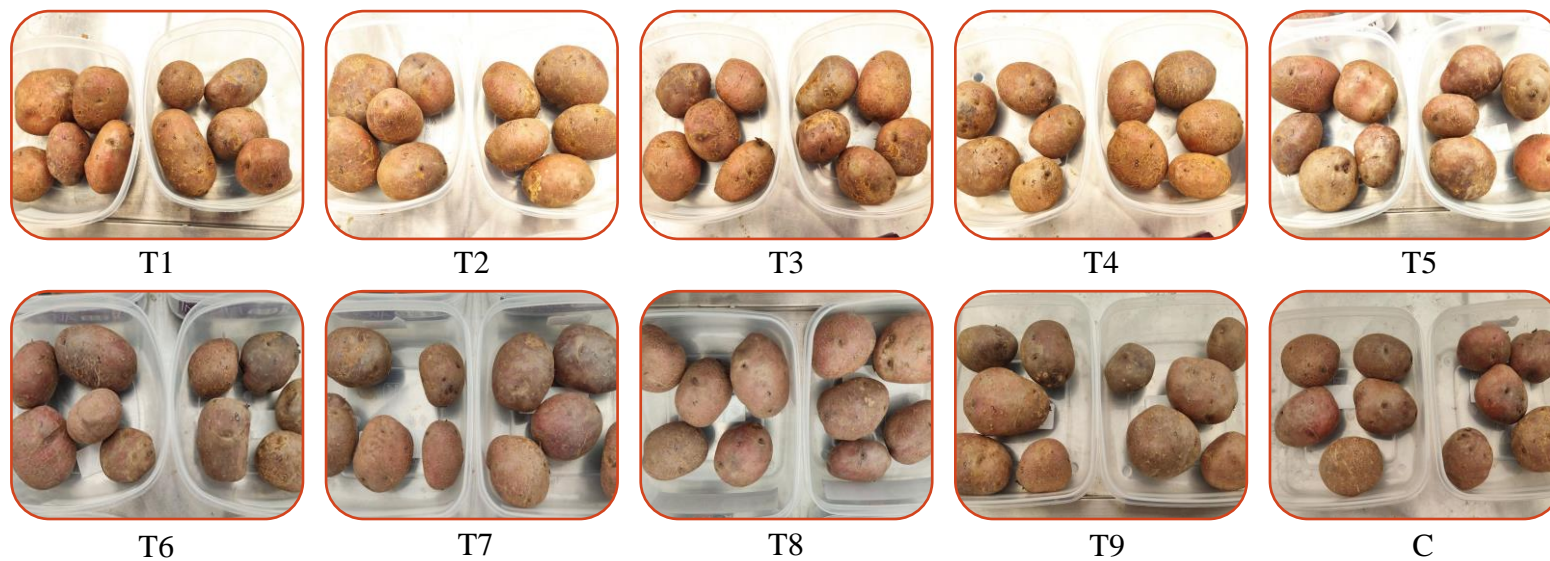
**Tabla 10**

*Influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre el porcentaje de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con yemas brotadas a los 7, 14 y 21 días.*

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE TUBÉRCULOS CON YEMAS BROTADAS.					
	7 DÍAS		14 DÍAS		21 DÍAS	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>1 ppm AG3 x 1 min</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50
<b>2 ppm AG3 x 1 min</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50
<b>3 ppm AG3 x 1 min</b>	0,9	47,50	0,9	47,50	0,9	47,50
<b>1 ppm AG3 x 2 min</b>	0,9	47,50	0,9	47,50	0,9	47,50
<b>2 ppm AG3 x 2 min</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50
<b>3 ppm AG3 x 3 min</b>	0,9	47,50	0,9	47,50	0,9	47,50
<b>1 ppm AG3 x 3 min</b>	0,9	47,50	0,9	47,50	0,9	47,50
<b>2 ppm AG3 x 3 min</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50
<b>3 ppm AG3 x 3 min</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50
<b>Control sin AG3</b>	1	52,50	1	52,50	1	52,50

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .



**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Figura 8**

*Yemas brotadas en tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con distintas concentraciones de AG3: 1 ppm AG3 x 1 min (T1), 2 ppm AG3 x 1 min (T2), 3 ppm AG3 x 1 min (T3) 1 ppm AG3 x 2 min (T4), 2 ppm AG3 x 2 min (T5), 3 ppm AG3 x 2 min (T6), 1 ppm AG3 x 3 min (T7), 2 ppm AG3 x 3 min (T8), 3 ppm AG3 x 3 min (T9) y un Control sin AG3.*



A



B

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

**Figura 9**

*Yemas de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola con distintas concentraciones de AG3 brotados en turba los 7 días (A) y 21 días (B).*

Según **Coraspe León et al. (2002)**, manifestaron que el inicio de la brotación de tubérculos semillas bajo la influencia de ácido giberélico (AG3) estuvo asociado con varios factores entre ellos la temperatura a la que se encuentran los tubérculos y la condición genética de la variedad, ya que dependiendo de ella el reposo puede durar inclusive semanas o meses como sucede en el cv. Granola en condiciones de páramo.

**Liljana et al. (2012)**, indicaron que la influencia del ácido giberélico en una concentración de 2 ppm para la estimulación de brotes fue suficiente para los cultivares de papa Agrija y Andrea. Todos los tubérculos tratados produjeron un brote *de novo*, lo que muestra un efecto del 100% en la formación de brotes, el cultivar Agrija se destacó con un promedio de 9,66 rebrotes por tubérculo.

**Wróbel et al. (2017)**, concluyeron que el AG3 en combinación con etanol al 4%, redujeron significativamente la latencia de los tubérculos de papa de cultivares Pasat y Dorota en comparación del tratamiento que involucraba a la hormona kinetina. Los tubérculos tuvieron un tiempo de inmersión de 15 y 30 minutos porque se trataban de variedades que tenían una larga etapa de latencia profunda, resultando más efectivo el tiempo mayor. Sin embargo, la sola aplicación de AG3 fue suficiente para inducir una brotación exitosa en ambos cultivares Pasat y Dorota con un 80% y 44%, respectivamente.

Los resultados del ensayo influencia del ácido giberélico (AG3) y tiempos de exposición sobre la brotación de yemas de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola. con los de los autores antes descritos fueron similares en cuanto a que la fitohormona AG3 fue la responsable de inducir la brotación en tubérculos, sin embargo, el tiempo pudo ser un factor importante a considerar para futuras investigaciones.

### **3.2. Establecer *in vitro* yemas de tubérculos brotados.**

#### **3.2.1. Influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos.**

En la evaluación que respecta a los 7 días de establecido el ensayo, se consideró que la concentración de medio de cultivo MS al 75% es el tratamiento que presentó mayor porcentaje de contaminación *in vitro* con respecto a los demás. Por otro lado, en la valoración a los 14 y 21 días de la influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos, se observó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de medio de cultivo MS al determinar el porcentaje de contaminación *in vitro* de brotes de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola, sin embargo, los tratamientos que presentaron un menor porcentaje de contaminación en las mismas fechas de evaluación son la concentración al 100% de MS y al 50% de MS, mientras que el tratamiento que mayor porcentaje de contaminación presentó fue el tratamiento con la concentración al 25% de MS (**Tabla 11 y Figura 11**).

En la evaluación a los 7, 14 y 21 días de la influencia de composición expresada en porcentaje del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de medio de cultivo MS al determinar el porcentaje de establecimiento *in vitro* de brotes de tubérculos de papa *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola, sin embargo, el tratamiento que mayor porcentaje de establecimiento *in vitro* presenta a la última fecha de valoración es la concentración al 100 % mientras que el que menos porcentaje de establecimiento tuvo es el tratamiento que no contenía ninguna concentración de medio de cultivo MS (**Tabla 12**).



**Tabla 11**

*Influencia de diferentes concentraciones de medio de cultivo MS sobre el porcentaje de contaminación in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.*

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN <i>IN VITRO</i>					
	7 DÍAS		14 DÍAS		21 DÍAS	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
Concentración de medio de cultivo MS al 100%	0	45,50 b	0,1	44,50	0,1	44,50
Concentración de medio de cultivo MS al 75%	0,3	60,50 a	0,3	54,50	0,3	54,50
Concentración de medio de cultivo MS al 50%	0,1	50,50 b	0,1	44,50	0,1	44,50
Concentración de medio de cultivo MS al 25%	0,1	50,50 b	0,4	59,50	0,4	59,50
Control sin medio de cultivo MS %.	0	45,50 b	0,2	49,50	0,2	49,50

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .

**Tabla 12**

*Influencia de diferentes concentraciones de medio de cultivo MS sobre el porcentaje de establecimiento in vitro de brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.*

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i>					
	7 DÍAS		14 DÍAS		21 DÍAS	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>Concentración de medio de cultivo MS al 100%</b>	0,85	62,50	0,9	61,00	0,9	61,00
<b>Concentración de medio de cultivo MS al 75%</b>	0,55	47,50	0,65	48,50	0,65	48,50
<b>Concentración de medio de cultivo MS al 50%</b>	0,55	47,50	0,7	51,00	0,7	51,00
<b>Concentración de medio de cultivo MS al 25%</b>	0,65	52,50	0,7	51,00	0,7	51,00
<b>Control sin medio de cultivo MS.</b>	0,45	42,50	0,5	41,00	0,5	41,00

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .

Tratamiento 1 (MS al 100 %) 10 REPETICIONES



Elaborado por Nicole Bonilla

**Figura 10**

*Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 100% a los 7 días (A) y 21 días (B).*

Tratamiento 1 (MS al 75 %) 10 REPETICIONES

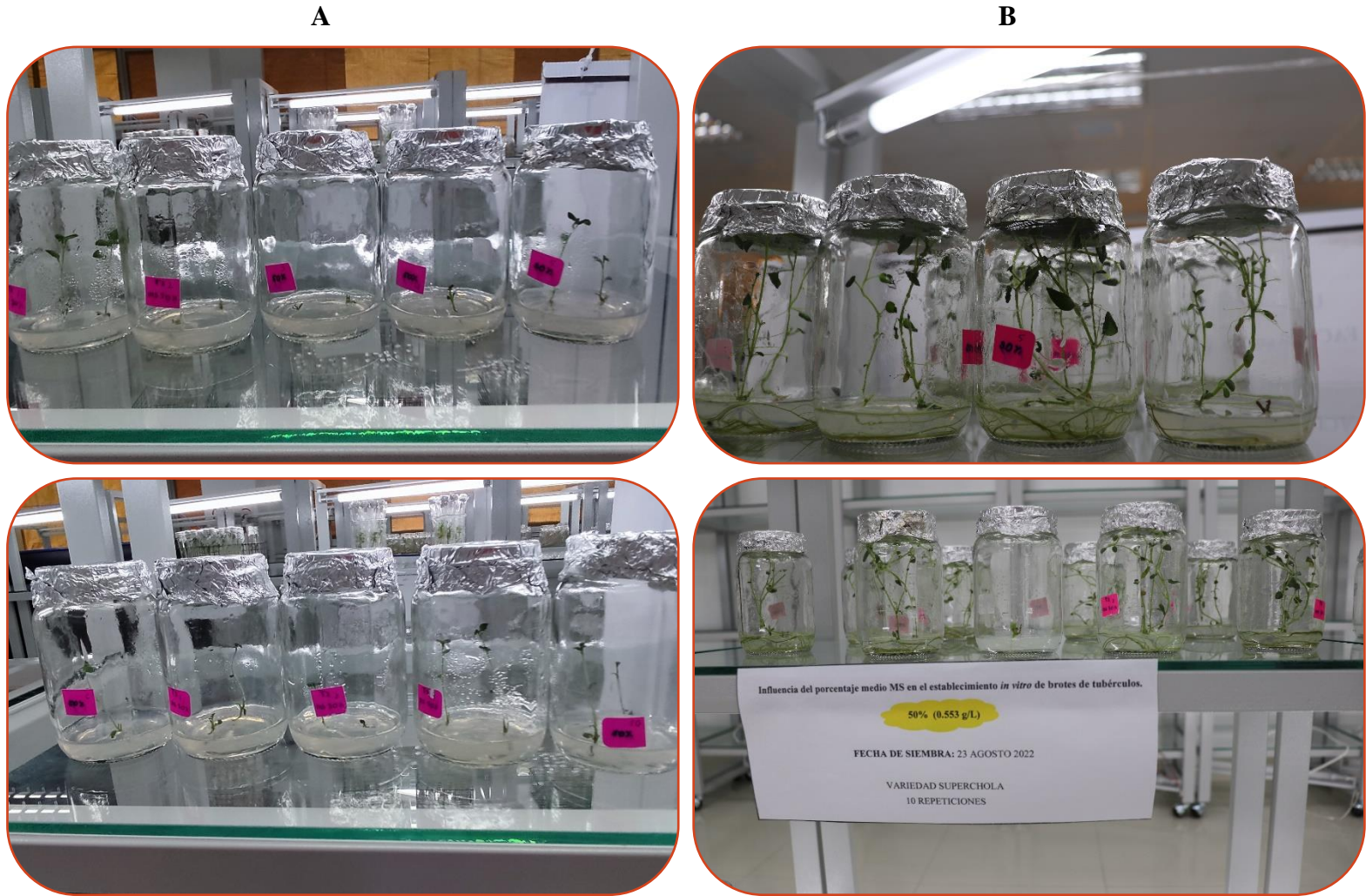


Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 11**

*Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 75% a los 7 días (A) y 21 días (B).*

Tratamiento 3 (MS al 50 %) 10 REPETICIONES

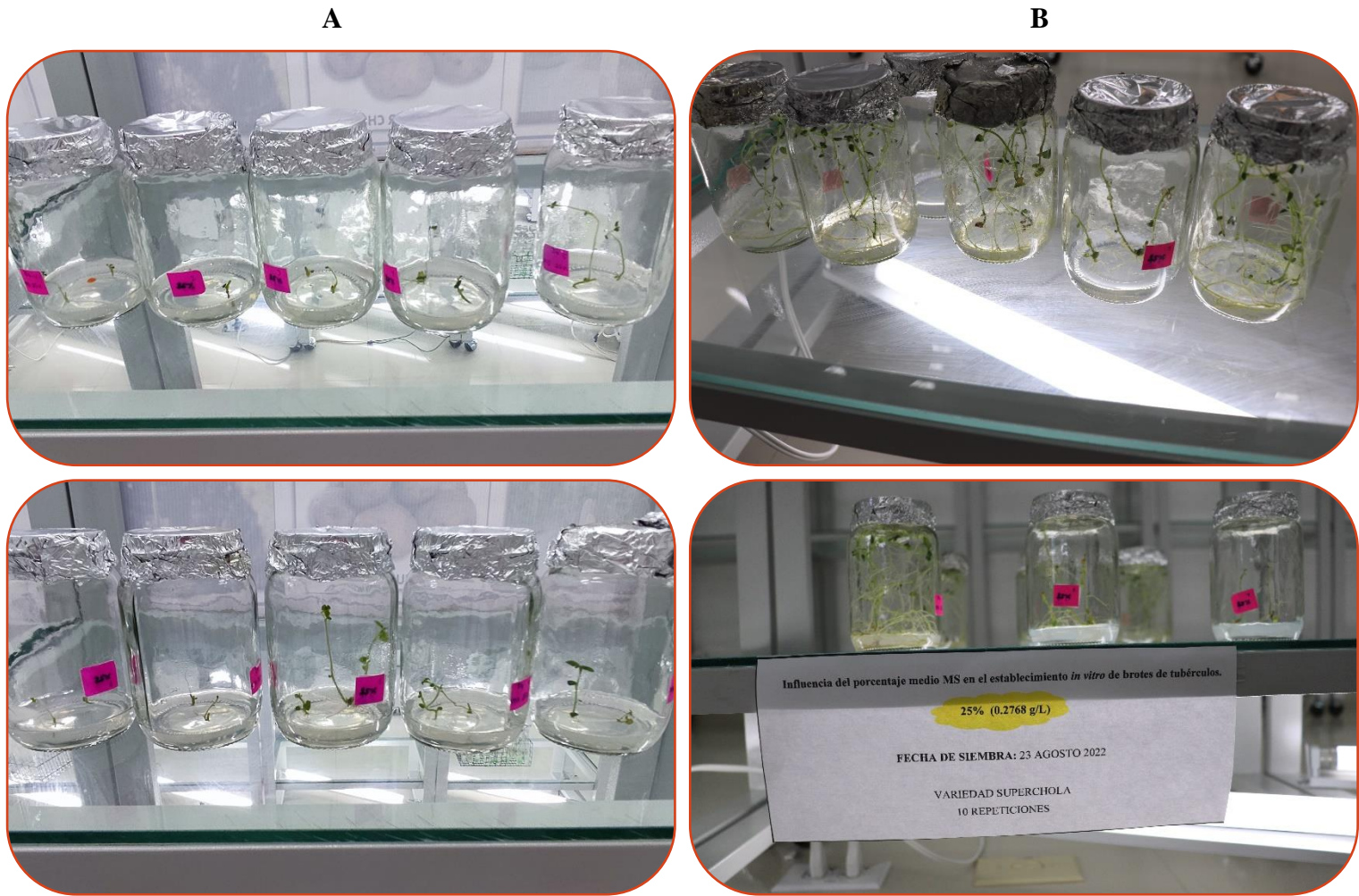


Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 12**

*Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 50% a los 7 días (A) y 21 días (B).*

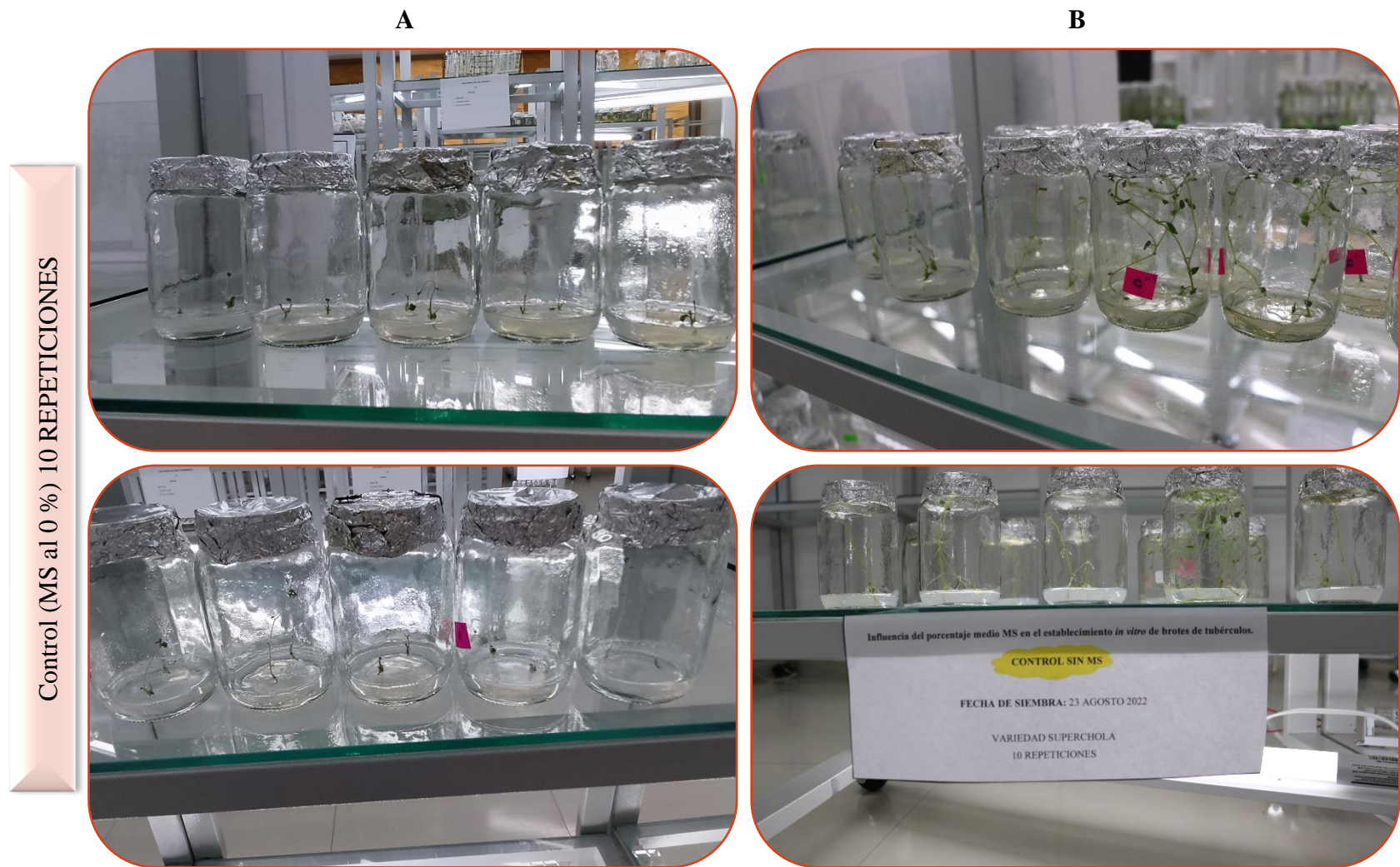
Tratamiento 4 (MS al 25 %) 10 REPETICIONES



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 13**

*Brotes de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro a una concentración del 25% a los 7 días (A) y 21 días (B).*



Elaborado por Nicole Bonilla

**Figura 14**

*Brotos de tubérculos de papa Solanum tuberosum L. Var. Superchola establecidos in vitro sin MS a los 7 días (A) y 21 días (B).*

Según **Pinhal et al. (2017)**, manifestaron que en el análisis del efecto de diferentes concentraciones del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de brotes a partir de tubérculos, las concentraciones cercanas al 50% redujeron el porcentaje de contaminación de explantes, mientras que en los medios más concentrados o diluidos se observó mayor contaminación, sin embargo, el efecto es pudo ser variable afirmaron ya que las concentraciones nutritivas de MS pudieron interferir en el desarrollo de patógenos dependiendo el ambiente.

**Oliveira et al. (1996)**, explicaron que en la evaluación de distintas concentraciones del medio de cultivo MS, se encontraron mayor número de brotes con la concentración más alta de MS porque hay una alta disponibilidad de nutrientes, contribuyendo con la formación y desarrollo necesario para un mejor establecimiento *in vitro*.

### **3.3. Inducir formación de nuevos tallos y hojas.**

#### **3.3.1. Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

Al cabo de 7 días de establecido el ensayo, se evidenció que los tratamientos suplementados con 2 mg/L y 4 mg/L de Kinetina aumentaron el número de hojas de los explantes al igual que el número de brotes y el número de yemas axilares por explante, pero, para la variable altura de planta resultan efectivas todas las concentraciones de la fitohormona kinetina, solamente difiriendo con el control (**Tabla 13**).

En la evaluación a los 14 días se observó que la concentración suplementada con 2 mg/L de kinetina influyó únicamente aumentando el número de brotes por explante, mientras que la concentración con 4 mg/L de kinetina influyó positivamente en el número de hojas, altura de planta, número de brotes y número de yemas axilares. Finalmente, el



medio suplementado con 6 mg/L de Kinetina solo intervino aumentando el número de brotes por explante (**Tabla 14**).

Por último, a los 21 días se observó que la concentración con 2 mg/L de kinetina aumentó la altura de planta y el número de yemas axilares por explante, mientras que la concentración con 4 mg/L de kinetina influyó positivamente en todas las variables respuesta. Por otra parte, el tercer tratamiento suplementado con 6 mg/L de kinetina solo aumentó la altura de planta (**Tabla 15**).

**Liljana et al. (2012)**, expone que el medio de cultivo MS juntamente con una concentración de 4 mg/L kinetina, contribuyó positivamente en la etapa de organogénesis para la multiplicación y formación de brotes en condiciones *in vitro* de explantes iniciales de los cultivares de papa Agrija y Andrea.

**Tabla 13**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 7 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
MS + 2mg/L KIN	3,7	25,60 a	2,7	24,50 a	1,6	21,90 a	2,3	21,85 a
MS + 4mg/L KIN	4,1	28,50 a	3,55	30,00 a	1,9	25,80 a	3,4	29,25 a
MS + 6mg/L KIN	2,5	18,60 ab	2,39	22,00 a	1,5	20,00 ab	2,1	20,15 ab
Control sin KIN	1	9,30 b	0,84	5,50 b	1,2	14,30 b	1,1	10,75 b

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .

**Tabla 14**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 14 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 2mg/L KIN</b>	5,8	26,25 ab	3,4	24,80 ab	1,9	21,00 a	4	25,70 ab
<b>MS + 4mg/L KIN</b>	6,3	29,15 a	4,2	29,75 a	2,4	27,20 a	4,9	29,75 a
<b>MS + 6mg/L KIN</b>	3,9	18,55 b	2,91	20,85 b	2	22,70 a	2,8	18,20 b
<b>Control sin KIN</b>	1,2	8,05 c	1,14	6,60 c	1,3	11,10 b	1,2	8,35 c

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

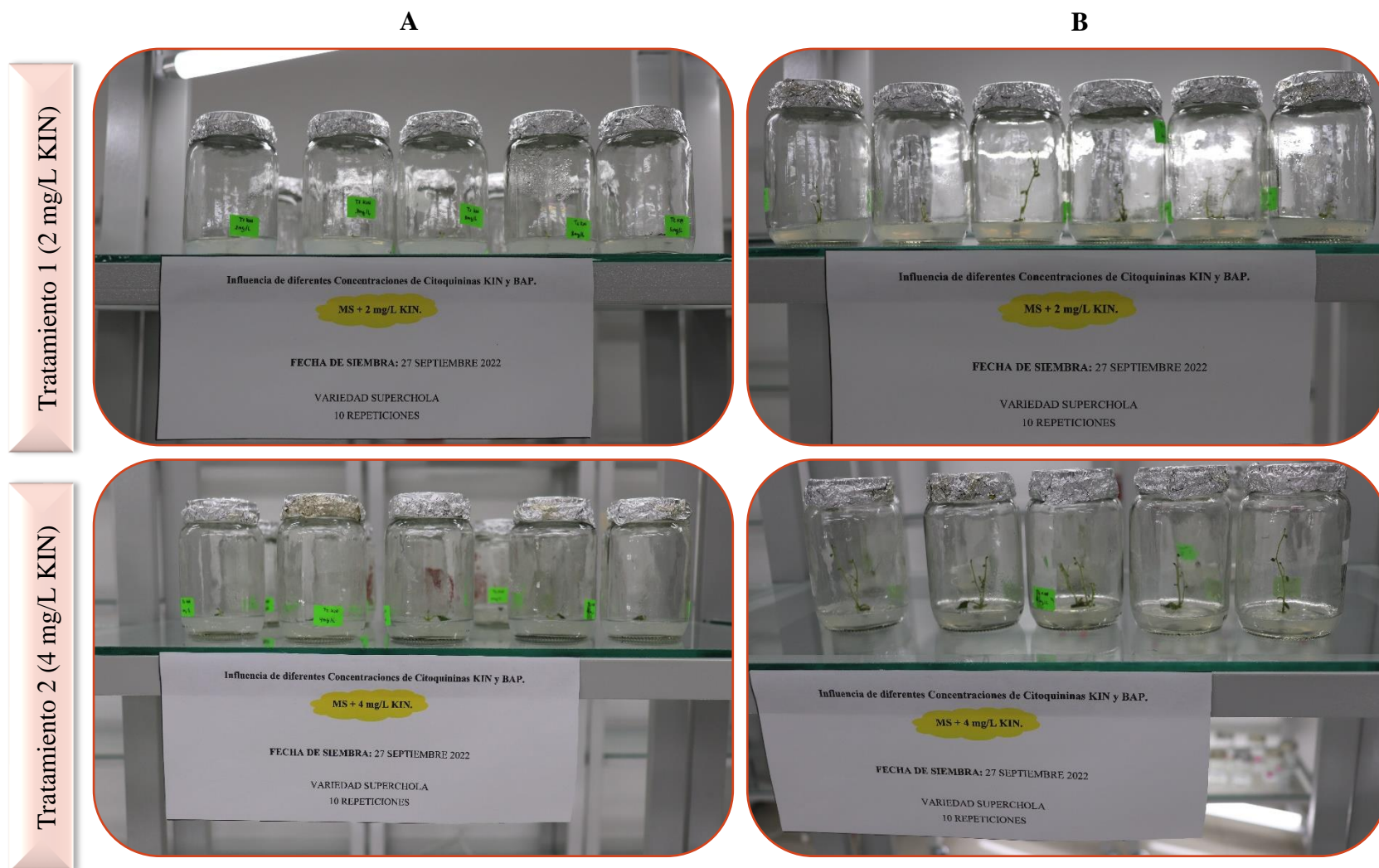
**Tabla 15**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina KIN sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 21 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 2mg/L KIN</b>	9,1	24,75 b	4,04	23,85 a	2,2	21,70 ab	5,2	26,00 a
<b>MS + 4mg/L KIN</b>	11,3	31,05 a	4,98	29,85 a	2,7	26,30 a	6,2	28,90 a
<b>MS + 6mg/L KIN</b>	6,5	18,40 b	3,59	21,15 a	2,1	20,15 ab	3,7	18,75 b
<b>Control sin KIN</b>	2,2	7,80 c	1,39	7,15 b	1,7	13,85 b	1,4	8,35 c

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

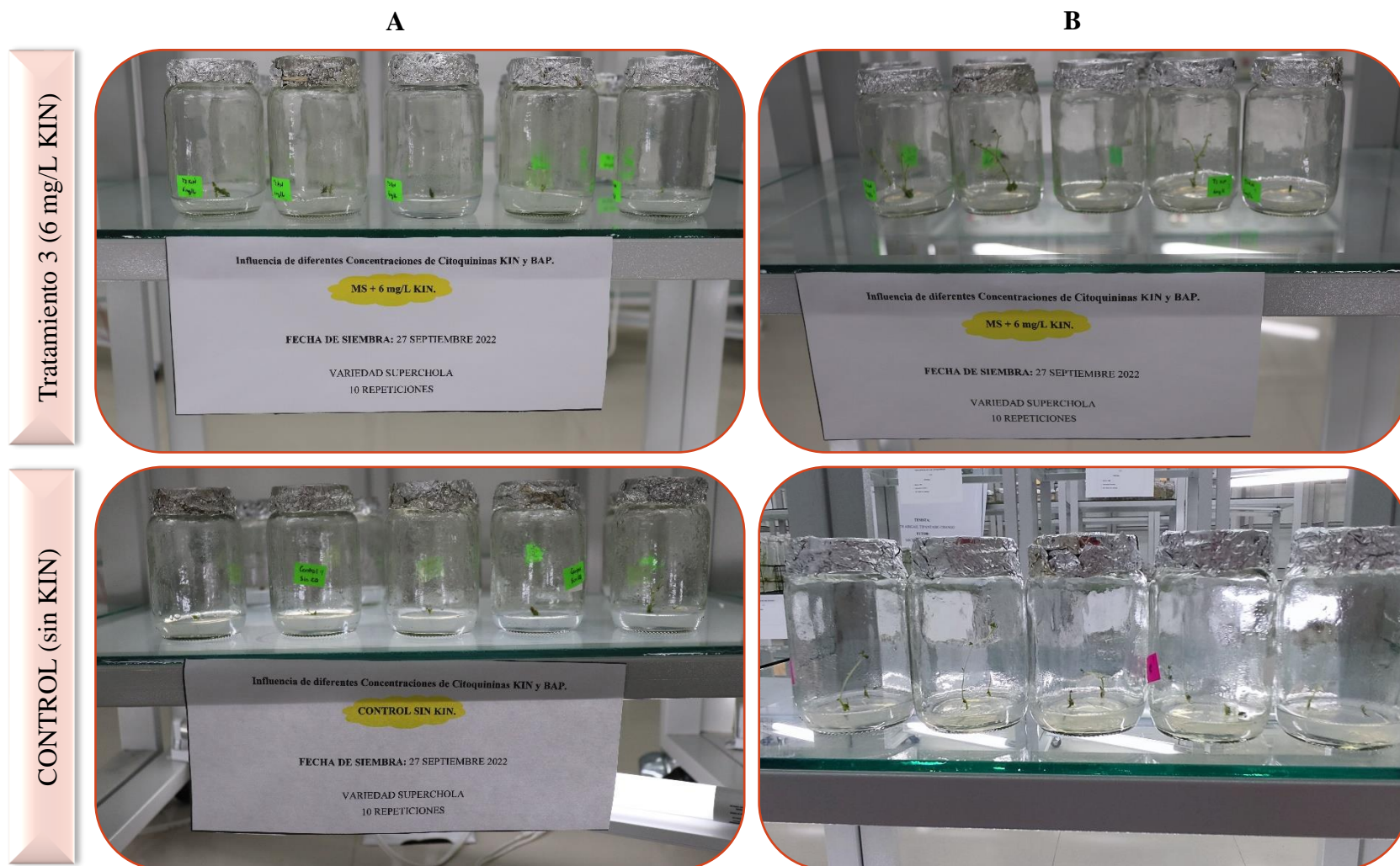
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 15**

*Explantos de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con diferentes concentraciones de la citoquinina KIN (2 y 4 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 16**

*Explantos de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con una concentración de 6 mg/L de KIN y control sin KIN a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*

### **3.3.2. Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

A los 7 días de evaluación se determinó que el medio suplementado con 1 mg/L de 6-BAP aumentó el número de hojas, la altura y el número de yemas axilares de los explantes, respecto al medio que contenía 2 mg/L de 6-BAP acrecentó el número de hojas y el número de yemas, pero no la altura de la planta ni el número de brotes por explante, mientras que el medio con 3 mg/L de 6-BAP aumentó el número de hojas la altura de la planta y el número de yemas axilares. En la variable respuesta número de brotes por explante no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de 6-BAP utilizadas (**Tabla 16**).

Al cabo de 14 días de la valoración se observó que los medios suplementados con 1 mg/L de 6-BAP y 2 mg/L de 6-BAP incrementaron el número de hojas, la altura de la planta y el número de yemas axilares por explante, el medio que contenía 3 mg/L de 6-BAP solamente influyó positivamente en el número de hojas y la altura de la planta. Finalmente, para la variable respuesta número de brotes por explante no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de 6-BAP (**Tabla 17**).

Por último, a los 21 días de la evaluación se determinó que el medio que contenía 1 mg/L de 6-BAP aumentó en número de hojas y el número de yemas axilares por explante, mientras que las concentraciones con 2 mg/L de 6-BAP y 3 mg/L de 6-BAP influyeron positivamente en las variables, número de hojas, altura de planta y número de yemas axilares por explante. Ninguna concentración de 6-BAP influyó sobre el número de brotes por explante (**Tabla 18**).

**Tabla 16**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 7 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 1mg/L 6-BAP</b>	4,2	24,95 a	2,36	25,70 a	1,6	19	3,3	28,85 a
<b>MS + 2mg/L 6-BAP</b>	3,7	21,35 a	1,92	18,25 ab	1,9	25	2,5	20,30 a
<b>MS + 3mg/L 6-BAP</b>	4,8	28,30 a	2,83	28,85 a	1,6	19	2,9	24,05 a
<b>Control sin 6-BAP</b>	1,3	7,40 b	1,33	9,20 b	1,6	19	1,4	8,80 b

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .



**Tabla 17**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 14 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 1mg/L 6-BAP</b>	5,9	23,90 a	3,27	22,80 a	1,9	17,75	3,8	26,40 a
<b>MS + 2mg/L 6-BAP</b>	6,1	24,15 a	3,43	23,60 a	2,4	25,8	3,7	24,30 a
<b>MS + 3mg/L 6-BAP</b>	6	24,95 a	3,79	27,75 a	2	19,3	3,4	20,20 ab
<b>Control sin 6-BAP</b>	2,9	9,00 b	1,71	7,85 b	2	19,15	2,4	11,10 b

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

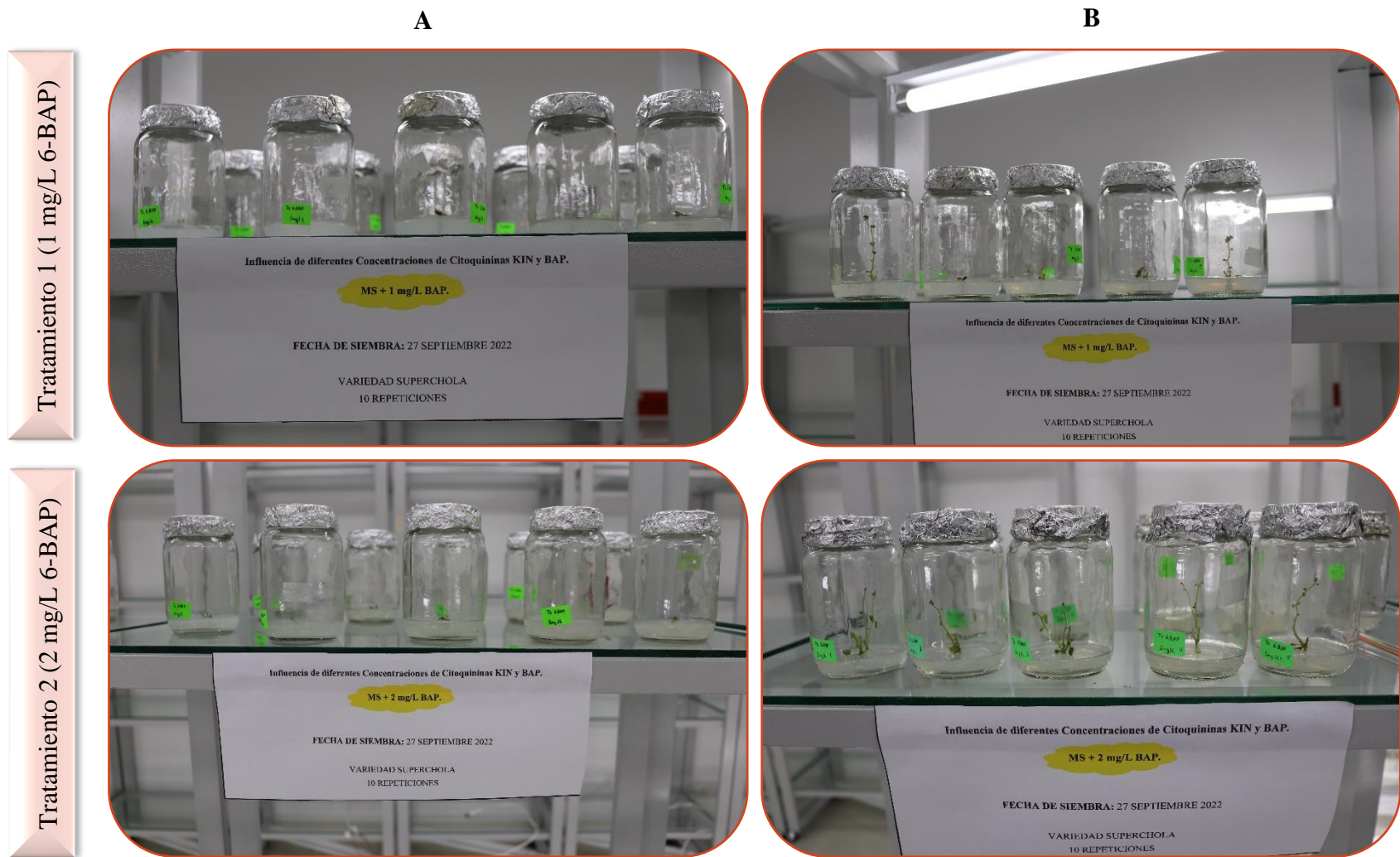
**Tabla 18**

*Influencia de diferentes concentraciones de Citoquinina 6-BAP sobre el número de hojas por explante, altura de planta (cm), número de yemas brotadas por explante y número de yemas axilares por explante en la multiplicación in vitro de Solanum tuberosum Var. Superchola a los 21 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE HOJAS		ALTURA DE PLANTA (CM)		NÚMERO DE BROTES		NÚMERO DE YEMAS AXILARES	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 1mg/L 6-BAP</b>	7,7	21,35 a	3,84	17,80 ab	2,1	18,25	4,6	22,85 a
<b>MS + 2mg/L 6-BAP</b>	9,4	25,95 a	4,68	25,35 a	2,6	25,35	5,7	26,75 a
<b>MS + 3mg/L 6-BAP</b>	8,5	23,30 a	4,8	26,95 a	2,3	21,05	4,6	21,25 a
<b>Control sin 6-BAP</b>	5,5	11,40 b	3,02	11,90 b	2,1	17,35	3,3	11,15 b

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

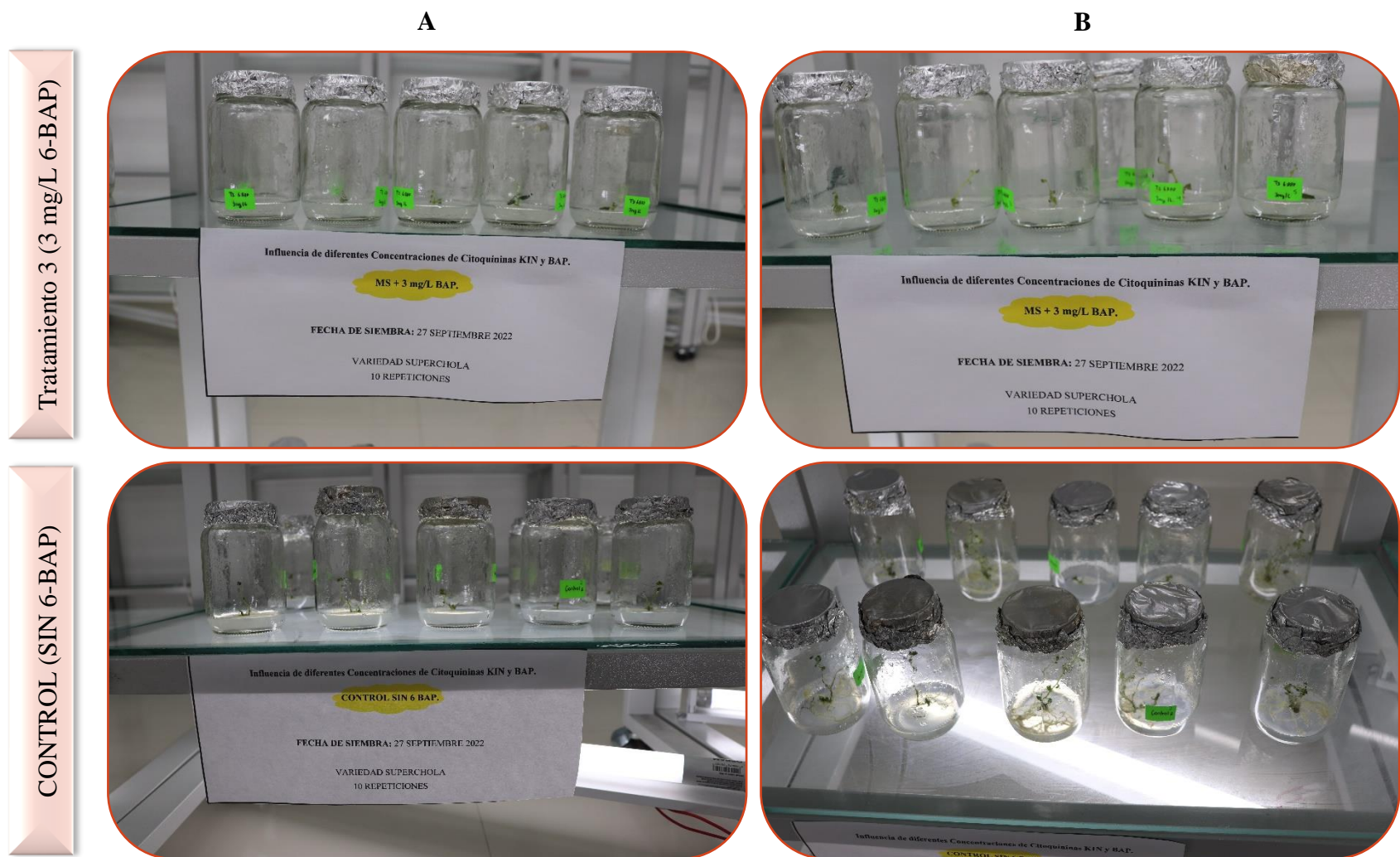
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 17**

*Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con diferentes concentraciones de 6-BAP (1 mg/L y 2 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 18**

*Explantos de Solanum tuberosum Var. Superchola multiplicados in vitro con una concentración de 3 mg/L de BAP y control sin BAP a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*

**Zulfiqar et al. (2012)**, en su análisis estadístico para la evaluación de respuestas *in vitro* de citoquinina 6-BAP en la multiplicación de brotes múltiples de papa *S. tuberosum*, concluyeron que el máximo número promedio de brotes se observó cuando se incluyeron 2,0 mg/L de 6-BAP de conjunto con 0,1 mg/L de KIN. Sin embargo, al agregar concentraciones más altas, el número de multiplicación de brotes disminuyó.

Similarmente, **Liljana et al. (2012)**, manifestaron que medios suplementados con 2 mg/L de 6-BAP incrementaron el enraizamiento *in vitro*, durante la micropropagación de los cultivares de papa Agrija y Andrea.

### **3.4. Enraizar los nuevos brotes multiplicados.**

#### **3.4.1. Influencia de diferentes concentraciones de auxina ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

A los 7 días de la valoración se obtuvo que las concentraciones adicionadas 0,01 mg/L y 0,02 mg/L de ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) influyeron positivamente en el número y longitud promedio de raíces aéreas, con el control también sucedió lo mismo, pero solo con el número de raíces aéreas. Por otro lado, en el número y promedio de raíces sumergidas no hubo diferencias estadísticas significativas entre las distintas concentraciones de ANA, aunque, el control presentó un mayor número y promedio de raíces sumergidas (**Tabla 19**).

En los 14 días posteriores de montado el ensayo, se determina que para las variables número de raíces y longitud promedio de raíces aéreas y número de raíces y longitud promedio de raíces sumergidas no existieron diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA), sin embargo,

la concentración con 0,01 mg/L de ANA destaca con un mayor número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas con respecto a los demás tratamientos. Lo mismo sucede con la concentración que tiene 0,005 mg/L de ANA, pero únicamente con el número de raíces sumergidas porque la longitud promedió de las mismas aumentó con el control (**Tabla 20**).

Finalmente, a los 21 días se observó que las concentraciones suplementadas con 0,01 mg/L de ANA y 0,02 mg/L de ANA presentaron el mayor número de raíces aéreas, sin embargo, para la longitud promedio de ese mismo tipo de raíces no existieron diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de ANA. En las variables número de raíces sumergidas y longitud promedio de raíces sumergidas tampoco surgieron diferencias estadísticas significativas, sin embargo, la concentración con 0,005 mg/L de ANA presentó un mayor número de raíces sumergidas, mientras que el control permitió una mayor longitud promedio de raíces sumergidas (**Tabla 21**).

**Tabla 19**

*Influencia del ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,005 mg/L ANA</b>	1,5	8,00 b	0,365	11,35 b	2,3	21,35	0,305	12,65
<b>MS + 0,01 mg/L ANA</b>	5,6	27,30 a	0,81	30,25 a	2,2	20,5	0,75	21,4
<b>MS + 0,02 mg/L ANA</b>	5,8	25,70 a	0,81	25,70 a	1,8	17,25	0,83	21,3
<b>Control sin ANA</b>	4,2	21,00 a	0,53	14,70 b	2,9	22,9	1,215	26,65

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

**Tabla 20**

*Influencia del ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de *Solanum tuberosum* L. var *Superchola* a los 14 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,005 mg/L ANA</b>	2,8	8,35	0,53	19,35	6	25,75	0,41	15,7
<b>MS + 0,01 mg/L ANA</b>	8,7	27,85	0,67	24,9	4	20,7	0,49	16,45
<b>MS + 0,02 mg/L ANA</b>	7,3	23,5	0,54	16,35	3,4	16,9	0,68	23,05
<b>Control sin ANA</b>	6,9	22,3	0,61	21,4	3,7	18,65	1,41	26,8

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .



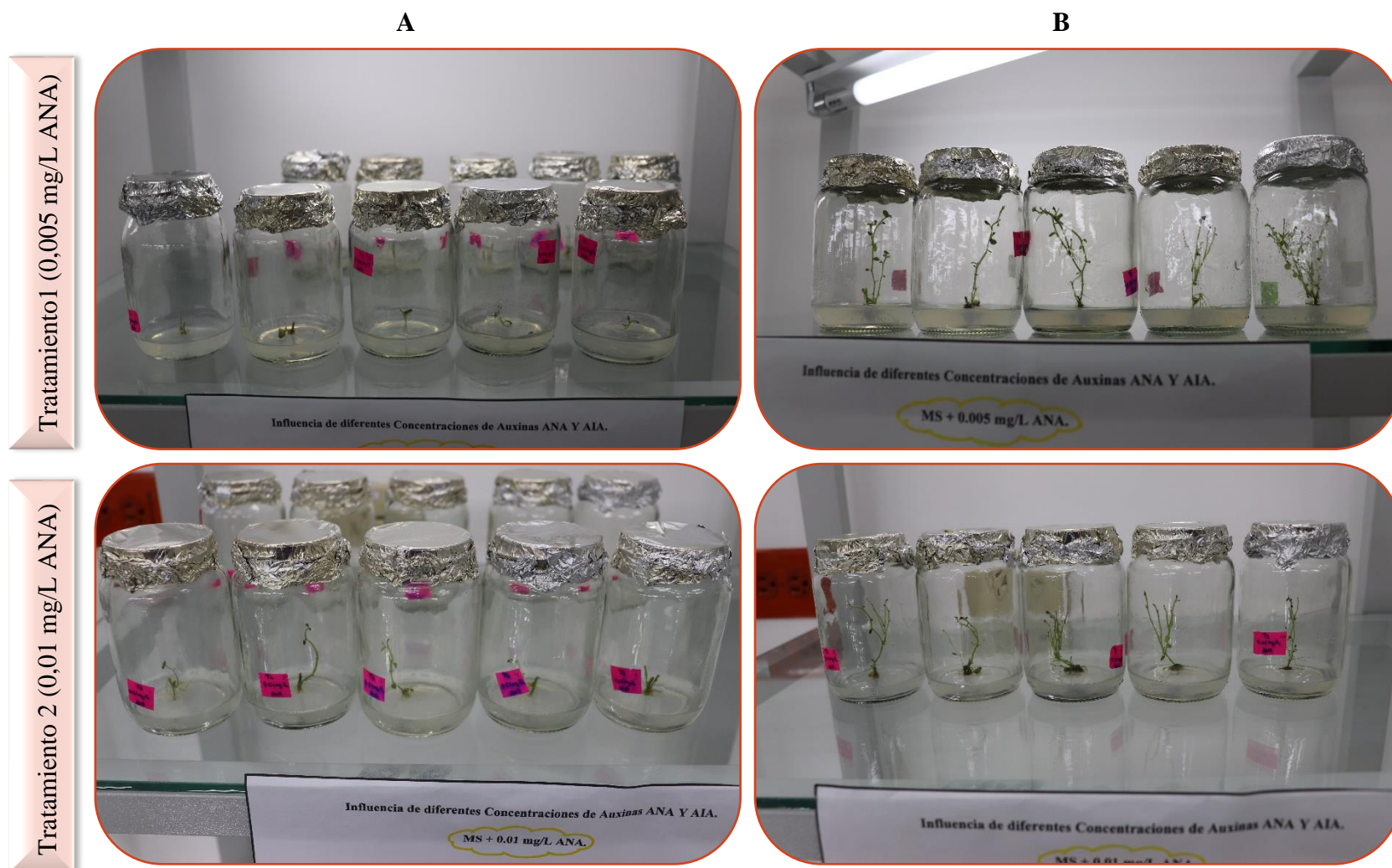
**Tabla 21**

*Influencia del ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de *Solanum tuberosum* L. var *Superchola* a los 21 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,005 mg/L ANA</b>	6,4	11,60 b	0,56	21,3	8,8	27,3	0,39	13,5
<b>MS + 0,01 mg/L ANA</b>	13,5	26,85 a	0,6	23	6	20,75	0,65	20
<b>MS + 0,02 mg/L ANA</b>	12,6	25,15 a	0,52	18,65	5,5	19,6	0,81	22,5
<b>Control sin ANA</b>	9	18,40 ab	0,54	19,05	4,4	14,35	1,44	26

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

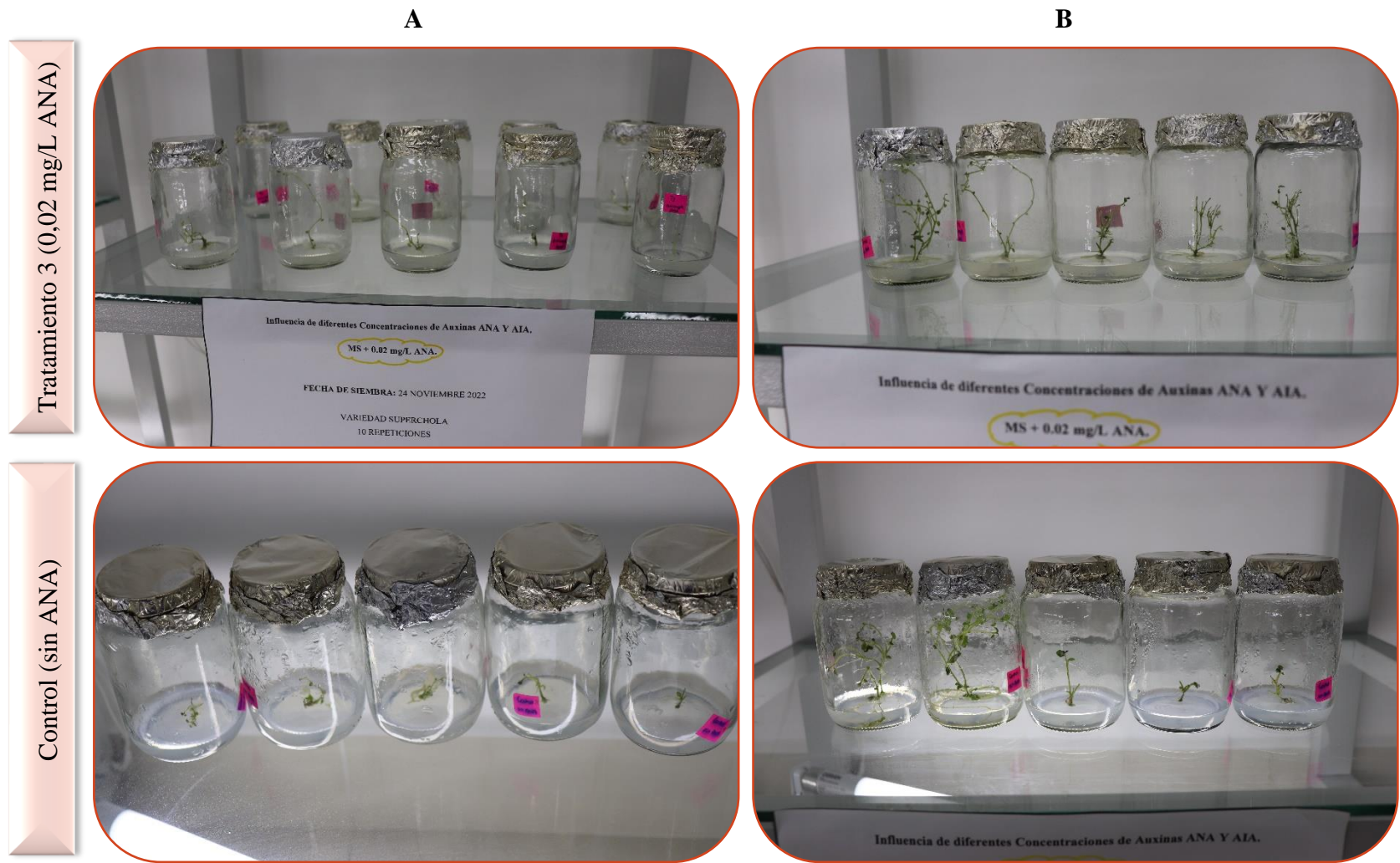
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 19**

*Explantes de Solanum tuberosum L. Var. Superchola enraizados in vitro con diferentes concentraciones de ANA (0,005 y 0,01 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo*



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 20**

*Explantes de Solanum tuberosum L. Var. Superchola enraizados in vitro con una concentración de 0,02 mg/L de ANA y control sin ANA a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*

**Hajare et al. (2021)**, observaron que la mejor iniciación de brotes resultó con en el medio de cultivo MS suplementado con 1,5 mg/L BAP + 3,0 mg/L NAA para la variedad de papa Gudiene, mientras que cuando utilizaron 1,0 mg/L BAP y 2,0 mg/L NAA produjeron más brotes en la variedad Belete. Por otro lado, el medio de cultivo MS que contenía 0,5 mg/L de IAA resultó eficaz para la generación de raíces en ambas variedades.

**Badoni y Chauhan (2009)**, en su estudio sobre el efecto de dos combinaciones hormonales, es decir, GA3+ ANA y Kinetin + ANA con medio de cultivo MS en la regeneración y multiplicación *in vitro* de brotes utilizando puntas de meristemas de papa de cultivar Kufri Himalini, determinaron que el medio complementado con 25 mg/L GA3 y 0,01 mg/L ANA alcanzaron la mayor longitud de raíces. También identificaron que con concentraciones más altas de ANA como 0,03 y 0,04 se puede llegar a inhibir el crecimiento de raíces y brotes.

Según **Campos et al. (2016)**, en su estudio para encontrar un protocolo de organogénesis directa a partir de segmentos de brotes de *Solanum tuberosum* cultivar Monalisa, concluyeron que al utilizar un medio de cultivo MS suplementado con 0,05 mg/L y 0,10 mg/L de ANA incrementaron el enraizamiento *in vitro*.

### **3.4.2. Influencia de diferentes concentraciones de auxina AIA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

A los 7 días del establecimiento del ensayo se observó que para las variables número de raíces aéreas y sumergidas y longitud promedio de raíces aéreas y sumergidas no existieron diferencias estadísticas significativas entre las distintas concentraciones de la auxina AIA utilizadas, sin embargo, la concentración con 0,6 mg/L de AIA presentó el mayor número de raíces aéreas y la mayor longitud promedio de raíces aéreas respecto al resto de tratamientos. Por otra parte, en el control se evidenciaron los valores mayores en número de raíces como en la longitud promedio de las raíces sumergidas (**Tabla 22**).

En la evaluación a los 14 días, resultó que para la variable longitud de promedio de raíces sumergidas existieron diferencias respecto al control. Por otro lado, para el número de raíces aéreas, la longitud promedio de raíces aéreas y el número de raíces sumergidas no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de AIA, sin embargo, la concentración con 0,6 mg/L de AIA presentó los valores más altos para número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas, en la variable número de raíces sumergidas destacó la concentración con 0,4 mg/L de AIA (**Tabla 23**).

Al cabo de 21 días, en la evaluación se observó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de AIA para ninguna de las variables respuesta planteadas, sin embargo, el control mostró los valores más altos con respecto al número y longitud promedio de raíces aéreas y el número de raíces sumergidas, mientras que de la mayor longitud promedio de raíces sumergidas fue responsable la concentración con 0,6 mg/L de AIA (**Tabla 24**).

**Tabla 22**

*Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 7 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (cm)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (cm)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,6 mg/L AIA</b>	5,2	26,35	1,14	24,1	0,7	17,1	0,44	18,5
<b>MS + 0,4 mg/L AIA</b>	3,1	17,8	0,52	15,85	1,4	21,7	0,33	18,4
<b>MS + 0,2 mg/L AIA</b>	4,3	23,05	0,83	26,35	0,7	16,2	0,23	14,95
<b>Control sin AIA</b>	2,5	14,8	0,455	15,7	1,8	27	0,99	30,15

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

**Tabla 23**

*Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 14 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,6 mg/L AIA</b>	7,9	25,95	1,03	26	2,6	20,35	0,3	15,85 b
<b>MS + 0,4 mg/L AIA</b>	5,7	17	0,82	18,45	2,9	23,2	0,56	20,10 ab
<b>MS + 0,2 mg/L AIA</b>	6,9	23,17	0,84	22,61	1,8	15,39	0,4	14,44 b
<b>Control sin AIA</b>	4,9	14,2	0,59	13,2	2,5	20,6	1,31	29,05 a

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

**Tabla 24**

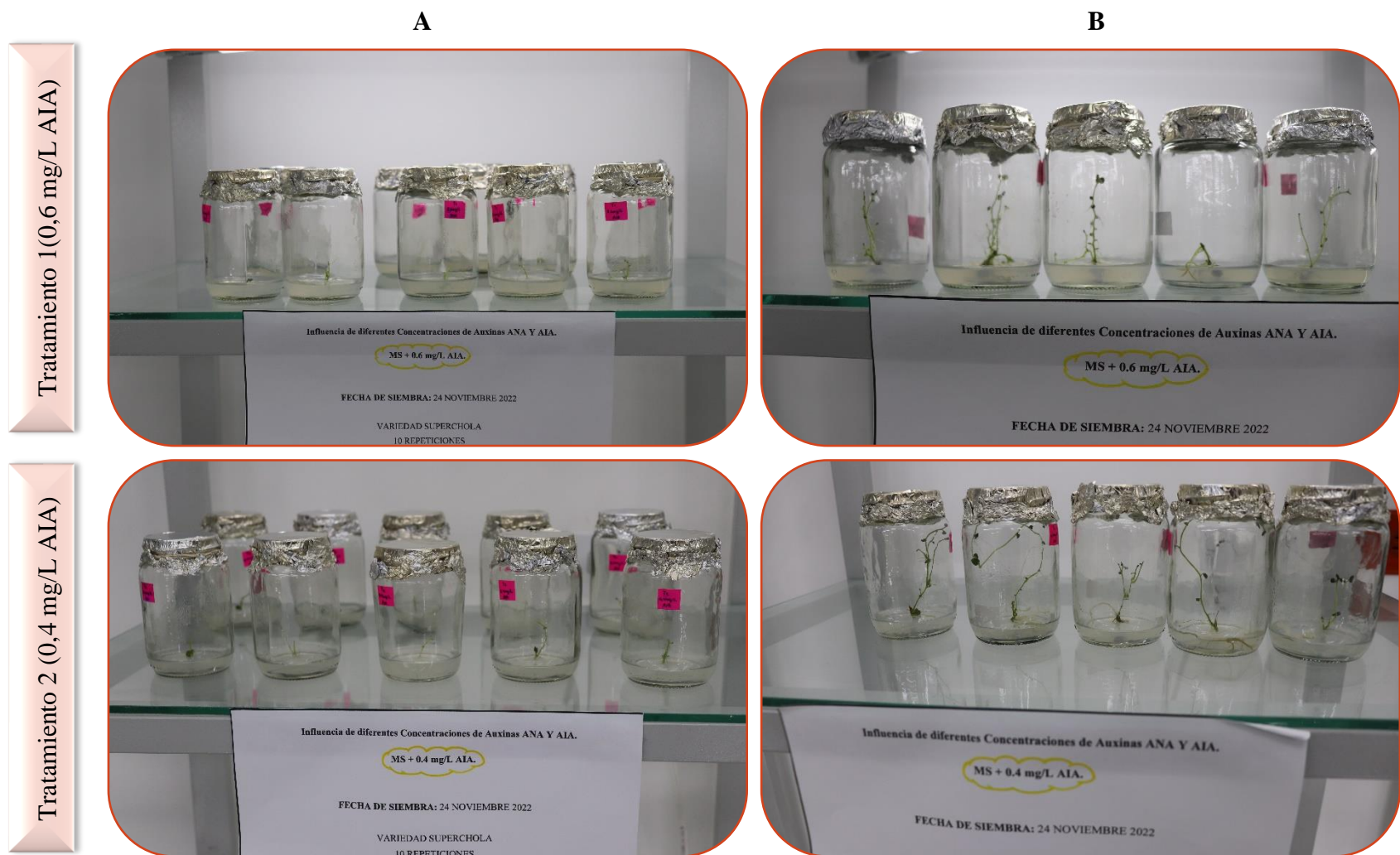
*Influencia del ácido indol-3-acético (AIA) sobre el número de raíces sumergidas, longitud promedio de raíces sumergidas, número de raíces aéreas y longitud promedio de raíces aéreas en el enraizamiento in vitro de Solanum tuberosum L. var Superchola a los 21 días de establecido el ensayo.*

TRATAMIENTOS	RAÍCES SUMERGIDAS				RAÍCES AÉREAS			
	NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)		NÚMERO DE RAÍCES		LONGITUD PROMEDIO (CM)	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>MS + 0,6 mg/L AIA</b>	8,2	27,75	0,62	24,75	2,8	24,15	1,48	18,2
<b>MS + 0,4 mg/L AIA</b>	9,3	17,35	0,79	21,75	2,6	24,55	0,38	19,35
<b>MS + 0,2 mg/L AIA</b>	8,6	19,4	0,86	20,4	4,4	15,9	0,67	13,6
<b>Control sin AIA</b>	12	17,5	0,94	15,1	4,8	17,4	0,51	30,85

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$ .

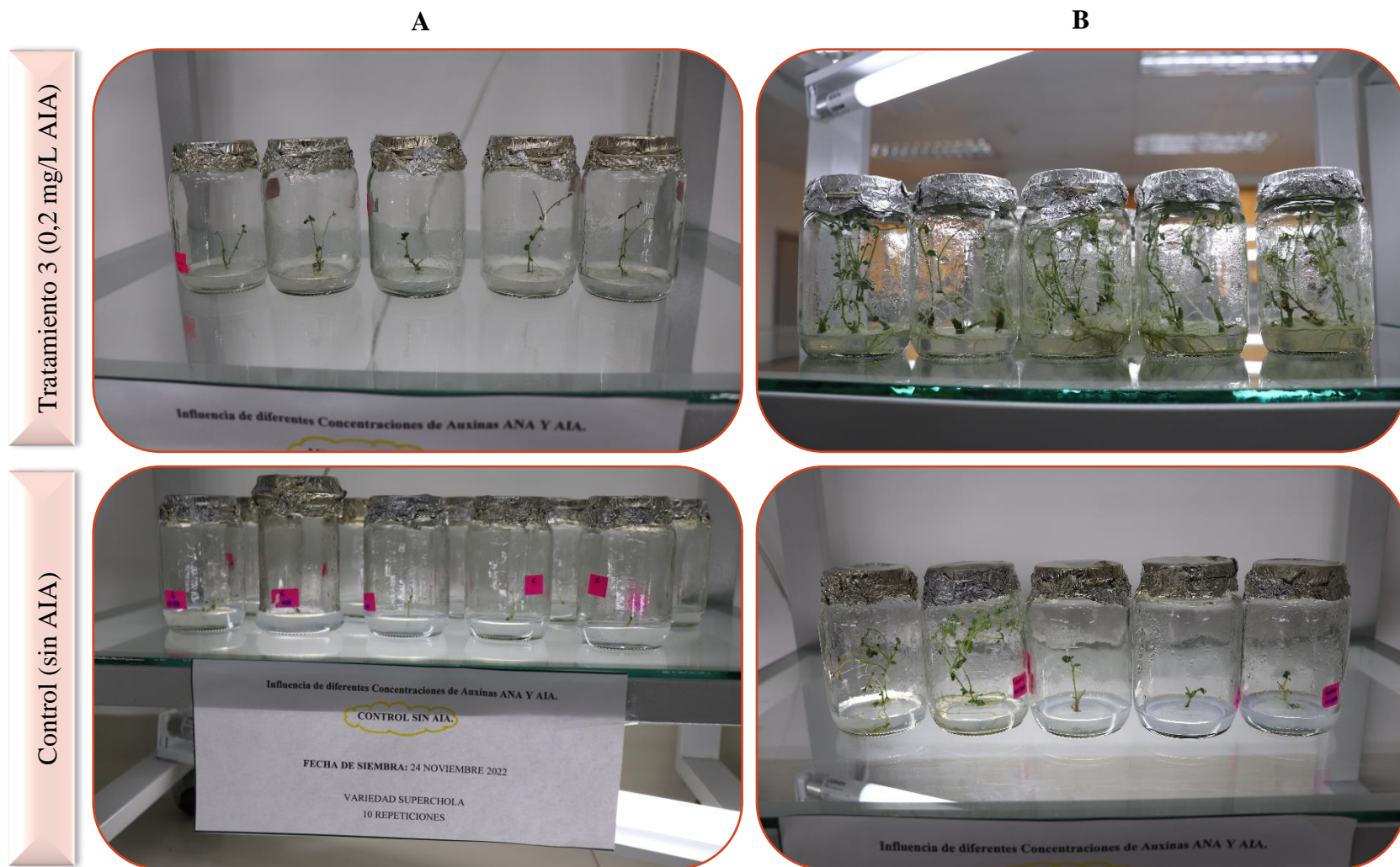




Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 21**

*Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola enraizados in vitro con diferentes concentraciones de AIA (0,6 y 0,4 mg/L) a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo*



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 22**

*Explantes de Solanum tuberosum Var. Superchola enraizados in vitro con una concentración de 0,02 mg/L de AIA y control sin AIA a los 7 (A) y 21 (B) días de establecido el ensayo.*

**Omer Ali e Idris Mohamed (2021)**, en su trabajo sobre la propagación *in vitro* de papa *Solanum tuberosum* L. en un solo paso utilizando diferentes concentraciones de AIA y kinetina, explican que los resultados revelaron diferencias significativas cuando las concentraciones fueron de 0,4 mg/L y 0,2 mg/L de AIA con respecto al número de raíces y la longitud de las raíces para las variedades Zafera y MondiaL. El número mayor de raíces se obtuvo cuando la concentración de la auxina fue de 0,4 mg/L y el menor cuando la concentración fue de 0,1 mg/L, sin embargo, estos resultados difieren de los obtenidos en el presente estudio.

**Kolachevskaya et al. (2019)**, informaron que, si bien es cierto que las auxinas intervienen en los procesos de iniciación, crecimiento y brotación de los tubérculos de papa, tampoco hay que descuidar las características específicas a las que está sujeta cada especie y que no están bajo control hormonal.

### **3.5. Aclimatizar en condiciones *ex vitro* las plantas multiplicadas.**

#### **3.5.1. Influencia de la Mezcla de turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola.**

A los 7 días de valoración, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las distintas mezclas de proporciones de Turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola. La variable porcentaje de supervivencia resultó de 100% para todos los tratamientos y el control, mientras que el número de entrenudos y número de hojas fue mayor cuando se utilizó el control turba+ arena en proporción 4:1. Por otra parte, el grado de salida de cepellón no supero el grado 2 con ningún tratamiento (**Tabla 25**).

Finalmente, a los 14 días de evaluación que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las distintas mezclas de proporciones de Turba (peat moss) + Perlita + Arena sobre la aclimatización *ex vitro* de plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Superchola. Sin embargo, el porcentaje más alto de supervivencia y el mayor número de hojas se dio en el sustrato T+P+A en proporciones 3:1:3, mientras que el control fue responsable de un mayor número de entrenudos y mayor grado de salida de cepellón (**Tabla 26**).

**Tabla 25**

*Influencia de la composición de diferentes sustratos elaborado con turba, perlita y arena sobre los parámetros supervivencia (%), número de entrenudos, número de hojas y grado de salida del cepellón en la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola a los 7 días de trasplantadas.*

TRATAMIENTOS	SUPERVIVENCIA (%)		NÚMERO DE ENTRENUDOS		NÚMERO DE HOJAS		SALIDA DEL CEPELLÓN	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>T+P+A 3:3:1</b>	1	20,50	9,7	19,40	20,5	20,25	1,4	21,80
<b>T+P+A 3:1:3</b>	1	20,50	8,5	16,10	18,6	17,35	1,3	19,85
<b>T+P+A 1:3:3</b>	1	20,50	9,3	18,30	17,4	15,55	1,3	19,85
<b>Control T+A 4:1</b>	1	20,50	13,4	28,20	28,9	28,85	1,3	20,50

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n=10$ .

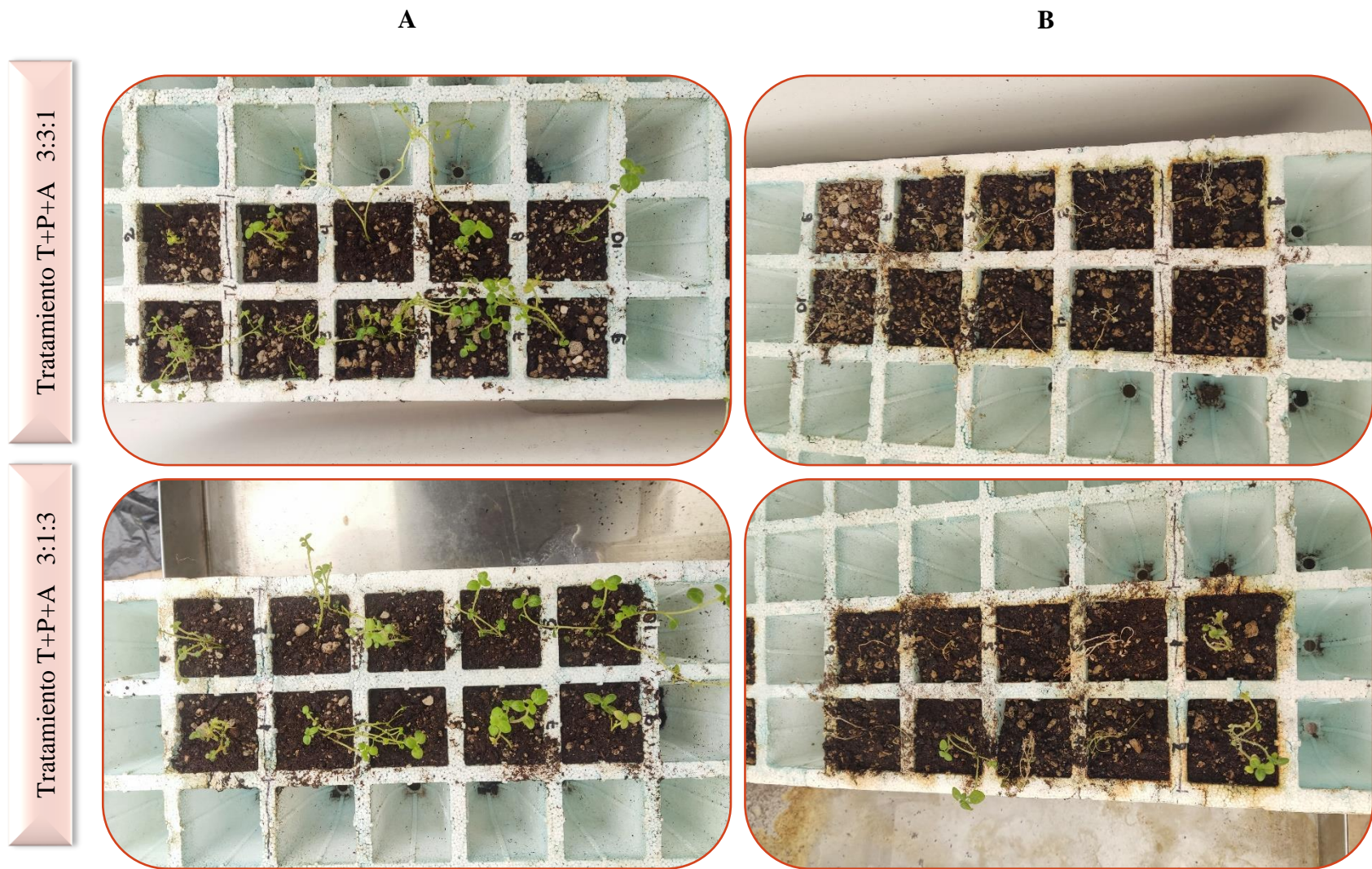
**Tabla 26**

*Influencia de la composición de diferentes sustratos elaborado con turba, perlita y arena sobre los parámetros supervivencia (%), número de entrenudos, número de hojas y grado de salida del cepellón en la aclimatización ex vitro de plantas micropropagadas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola a los 14 días de trasplantadas.*

TRATAMIENTOS	SUPERVIVENCIA (%)		NÚMERO DE ENTRENUDOS		NÚMERO DE HOJAS		SALIDA DEL CEPELLÓN	
	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio	$\bar{X}$	Rango promedio
<b>T+P+A 3:3:1</b>	0,2	17,50	0,5	16,55	0,3	17,10	0	16,00
<b>T+P+A 3:1:3</b>	0,5	23,50	2,1	23,55	4,5	24,60	0,4	23,60
<b>T+P+A 1:3:3</b>	0,4	21,50	1,5	20,95	2,1	20,00	0,2	19,80
<b>Control T+A 4:1</b>	0,3	19,50	3	20,95	2,4	20,30	0,5	22,60

**Elaborado por:** Nicole Bonilla.

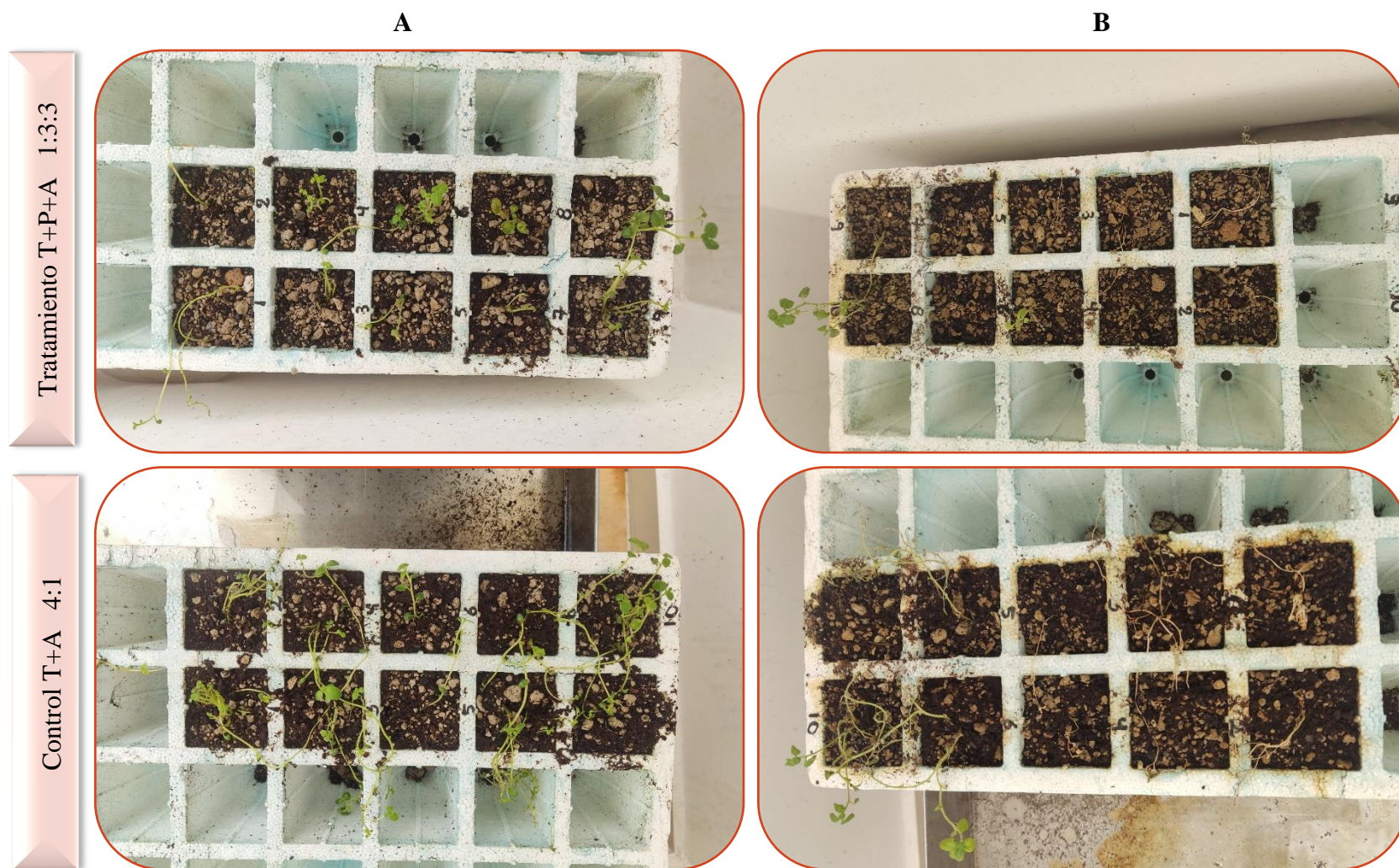
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para  $p < 0,05$  con  $n = 10$



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 23**

*Plántulas de Solanum tuberosum L. Var. Superchola aclimatizadas ex vitro en diferentes mezclas de proporciones de turba, perlita y arena (3:3:1 y 3:1:3) a los 7 días (A) y 14 días (B) de trasplantadas*



Elaborado por Nicole Bonilla.

**Figura 24**

Plántulas de *Solanum tuberosum* L. Var. *Superchola* aclimatizadas ex vitro en la mezcla de proporciones de turba, perlita y arena (1:3:3) y en un control de turba con arena (4:1) a los 7 días (A) y 14 días (B) de trasplantadas.



En este sentido **Abido y A Jabal (2016)**, determinaron que las plantas micropropagadas de *S. tuberosum* Var. Lady Balfour y Bellini, al usar un sustrato compuesto proporciones variables de perlita, turba(peatmoss) y arena (3:3:1), Garantizaron un crecimiento favorable, así como mejor retención de agua, niveles de pH, porosidad y aireación.

Por otra parte, **Sanavy y Moeini (2003)**, afirmaron que una mezcla de turba y arena en una proporción de 4:1 es la ideal para la aclimatización *ex vitro* de plántulas de papa *Solanum tuberosum* ya que la turba es uno de los constituyentes más importantes de los medios debido a su capacidad para afectar el crecimiento de las plantas de forma directa o indirecta. Esta mezcla mejora la agregación, la aireación (8%) y la retención de agua (77%), creando así un ambiente favorable para el crecimiento de las raíces.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

1. Las concentraciones de AG3 utilizadas no influyeron sobre la brotación de yemas a partir de tubérculos de la Var. Superchola en ninguno de los tiempos de inmersión utilizados.
2. El medio MS en ninguno de sus porcentajes de composición, influyó en el establecimiento *in vitro* de yemas de tubérculos brotadas.
3. Con 2, 4 y 6 mg/L de kinetina y con 1, 2 y 3 mg/L se formaron nuevos tallos y hojas *in vitro* durante la multiplicación *in vitro* de los brotes establecidos.
4. Con 0,01 y 0,02 mg/L de ANA se enraizaron *in vitro* los nuevos brotes multiplicados de papa Var. Superchola. Ninguna concentración de AIA influyó en el enraizamiento *in vitro* de los nuevos brotes multiplicados.
5. Las distintas mezclas de turba, perlita y arena no tuvieron diferencias en la aclimatización *ex vitro* de las plántulas multiplicadas.

#### 4.2. Recomendaciones

1. Sumergir por más tiempo los tubérculos en las distintas concentraciones de AG3, aconsejablemente por lapsos mayores a 15 minutos.
2. No utilizar concentraciones menores a 100% de MS en el establecimiento *in vitro* de yemas de tubérculos brotados de papa *Solanum tuberosum* Var. Superchola.
3. Utilizar concentraciones entre 2 mg/L y 4 mg/L de KIN y concentraciones entre 1 mg/L y 3 mg/L de 6-BAP para la fase de multiplicación *in vitro* de plantas de papa Var. Superchola.
4. Utilizar concentraciones de 0,01 mg/L ANA y 0,02 mg/L ANA para generar un mayor número de raíces aéreas en plantas de papa Var. Superchola.
5. No usar AIA para el enraizamiento *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* Var. Superchola.
6. No utilizar perlita gruesa para sustratos en almacigueras ya que no permite la adhesión de las raíces ni la formación de cepellón.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### 4.3. Referencias Bibliográficas

- Abido, A., & A Jabal, A. (2016). *In vitro* Propagation and *Ex vitro* Acclimatization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Using Nodal Cutting Explants. In *J. Adv. Agric. Res. (Fac. Agric. Saba Basha)* (VoL. 108, Issue 1).
- Aksoy, E., Demirel, U., Bakhsh, A., Bakar, M., Naim, M., Said, F., Caliskan, S., & Caliskan, M. (2021). Avances Recientes en el Mejoramiento de la Papa (*Solanum tuberosum* L.). In C. Springer (Ed.), *Avances en estrategias de fitomejoramiento: Cultivos vegetales*. . [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2\\_10](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2_10)
- Alexopoulos, A. A., Karapanos, I. C., Akoumianakis, K. A., & Passam, H. C. (2017). Effect of Gibberellic Acid on the Growth Rate and Physiological Age of Tubers Cultivated from True Potato Seed. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9616-z>
- Aremu, A. O., Fawole, O. A., Makunga, N. P., Masondo, N. A., Moyo, M., Buthelezi, N. M. D., Amoo, S. O., Spíchal, L., & Doležal, K. (2020). Applications of cytokinins in horticultural fruit crops: Trends and future prospects. *Biomolecules*, 10(9), 1–71. <https://doi.org/10.3390/biom10091222>
- Badoni, A., & Chauhan, J. (2009). Efecto de los reguladores de crecimiento en el desarrollo de Plantulas de Meristemas *in vitro*. Multiplicación del Cultivar de Papa “Kufri Himalini”. *Naturaleza y Ciencia*, 7(9), 31–34.
- Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2010). Conventional vis-a-vis Biotechnological Methods of Propagation in Potato: A Review. In *Stem Cell* (VoL. 1, Issue 1). <http://www.sciencepub.net/stem>
- Bradeen, J., & Haynes, K. (2011). *Genética, Genómica y Mejoramiento de Papa* (1st ed., VoL. 1).
- Campos, N., da Silva, G., de Paula, M., Rodrigues, T., Rodrigues, L., & Paiva, L. (2016). A direct organogenesis protocol from shoot segments of *Solanum tuberosum* cv.

- Monalisa. *Australian Journal of Crop Science*, 964–968.  
<https://doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.07.p7623>
- Coraspe León, H., Ortega, E., Montero, F., & Alvarado, C. (2002). El ácido Giberélico en la interrupción del reposo de tubérculos semillas de papa en las condiciones de Páramo. *Agronomía Tropical*, 52(4), 11.
- Ghosh, S., & Halder, S. (2018). Effect of different kinds of gibberellin on temperate fruit crops: A review. ~ 315 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 7(3), 315–319.  
[www.thepharmajournal.com](http://www.thepharmajournal.com)
- Hajare, S. T., Chauhan, N. M., & Kassa, G. (2021). Effect of Growth Regulators on *in vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete varieties from Ethiopia. *Scientific World Journal*, 2021.  
<https://doi.org/10.1155/2021/5928769>
- Hijmans, R. J., Gavrilenko, T., Stephenson, S., Bamberg, J., Salas, A., & Spooner, D. M. (2007). Geographical and environmental range expansion through polyploidy in wild potatoes (*Solanum* section *Petota*). *Global Ecology and Biogeography*, 16(4), 485–495. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00308.x>
- INEC. (2019). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) 2019. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2019/Presentacion%20de%20los%20principales%20resultados%20ESPAC%202019.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2019/Presentacion%20de%20los%20principales%20resultados%20ESPAC%202019.pdf)
- Kolachevskaya, O. O., Lomin, S. N., Arkhipov, D. v., & Romanov, G. A. (2019). Auxins in potato: molecular aspects and emerging roles in tuber formation and stress resistance. In *Plant Cell Reports* (Vol. 38, Issue 6, pp. 681–698). Springer Verlag.  
<https://doi.org/10.1007/s00299-019-02395-0>
- Liljana, K. G., Mitrev, S., Fidanka, T., & Mite, I. (2012). Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L. *EJ JB Bi Io o Electronic Journal of Biology*, 8(3).

- Llorente, B. (2005). *Cultivo in vitro. Cultivo de células y tejidos vegetales: Generalidades*. Servicio de Difusión de La Creación Intelectual Es El Repositorio Institucional de La Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
- Oliveira, P., Pasqual, M., & Paiva, R. (1996). *Efeito de diferentes concentrações do meio MS, nitrogênio and sacarose na micropropagação de crisântemo “orange reagen”* (VoL. 1).
- Omer Ali, Z. A., & Idris Mohamed, T. I. (2021). One Step *in vitro* Propagation and Production of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Minitubers Using Different Concentrations of Indole 3-acetic acid and Kinetin. *Nile Journal for Agricultural Sciences (NJAS)* , 06, 1–13. <http://www.nilevalley.edu.sd>
- Othman, M. H. A., Abido, A. I. A., & A. jabal, A. A. (2016). *In vitro* Propagation and *Ex vitro* Acclimatization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Using Nodal Cutting Explants. *J. Adv. Agric. Res. (Fac. Agric. Saba Basha)*, 21(1), 1–28.
- Pandey, S., Singh, S., & Sarkar, D. (2005). Potato (*Solanurn tuberosum*) for sustaining food and nutrition security in developing world. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 75, 3–18. <https://epubs.icar.org.in/index.php/IJAgS/article/view/9034/3791>
- Pinhal, H., Araruna, E. de la C., Carneiro, P., Asmar, S. A., Melos, B., & Luz José Magno. (2017). Concentration Of Ms Medium And Cutting Of Seeds On *In Vitro* Establishment Of Baruzeiro (*Dipteryx Alata* Vog.) Concentração Do Meio Ms E Corte Da Semente No Estabelecimento *In Vitro* Do Baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.). In *Original Article Biosci. J* (VoL. 33, Issue 2).
- Sanavy, J. A., & Moeini, J. (2003). Effects of Different Hormone Combinations and Planting Beds on Growth of Single Nodes and Plantlets Resulted from Potato Meristem Culture PTC Effects of Different Hormone Combinations and Planting Beds on Growth of Single Nodes and Plantlets Resulted from Potato Meristem Culture. In *Plant Tissue Cult* (VoL. 13, Issue 2). <https://www.researchgate.net/publication/242153458>

- Thayamini, S. (2013). *In vitro* Propagation of Ginger through Direct Organogenesis: A review. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 1(1), 1–11.
- Verma, V., Zinta, G., & Kanwar, K. (2021). Optimization of efficient direct organogenesis protocol for *Punica granatum* L. cv. Kandhari Kabuli from mature leaf explants. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 57(1), 48–59. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10111-x>
- Wróbel, S., Kęsy, J., & Treder, K. (2017). Effect of Growth Regulators and Ethanol on Termination of Dormancy in Potato Tubers. *American Journal of Potato Research*, 94(5), 544–555. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9592-2>
- Xhulaj, D., & Gixhari, B. (2018). *IN VITRO* MICROPROPAGATION OF POTATO (*Solanum tuberosum* L). CULTIVARS. *The Journal "Agriculture and Forestry,"* 64(4). <https://doi.org/10.17707/agricultforest.64.4.12>
- Zhang, S., & Lemaux, P. G. (2004). Molecular analysis of *in vitro* shoot organogenesis. In *Critical Reviews in Plant Sciences* (Vol. 23, Issue 4, pp. 325–335). <https://doi.org/10.1080/07352680490484569>
- Zulfiqar, M., Roomi, S., & Shah, M. (2012). *In vitro* Response of Cytokinin and Auxin to Multiple Shoot Regeneration in *Solanum tuberosum* L. *American - Eurasian Journal Agric. & Environ. Sci.*, 12(11), 1522–1526. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2012.12.11.1856>