UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE AGRONOMÍA

“Evaluación del efecto de 2,4 D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *Solanum tuberosum* var. superchola”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO

AGRÓNOMO

AUTOR

Jonathan Israel Guano Nuñez

TUTOR

Ing. Michel Leiva Mora, PhD

CEVALLOS – ECUADOR

2025

“Evaluación del efecto de 2,4 D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *Solanum tuberosum* var. superchola”

REVISADO Y APROBADO POR:



Ing. Leiva Mora Michel, PhD

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

FECHA



22/07/2025

Ing. Pomboza Pedro Pablo, PhD

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

22/07/2025



Ing. Vásquez Freytez Carlos Luis, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



22/07/2025

Ing. Leython Chacón Sirli Lilig, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **JONATHAN ISRAEL GUANO NUÑEZ**, portador de cédula de ciudadanía número: **1805707526**, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **"Evaluación del efecto de 2,4 D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *Solanum tuberosum* var. superchola"** 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.



……

JONATHAN ISRAEL GUANO NUÑEZ

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **"Evaluación del efecto de 2,4 D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *Solanum tuberosum* var. superchola"** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, 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 cualquier 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 de parte de él.



……

JONATHAN ISRAEL GUANO NUÑEZ

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme sabiduría, fortaleza y guía a lo largo de este arduo camino. Por ser mi refugio en los momentos difíciles, mi esperanza inquebrantable y mi mayor fuente de inspiración. Porque en su inmensa bondad me ha regalado la vida, la salud y la dicha de compartir este logro con las personas que amo.

A mis padres, Alberto Guano y Marcela Núñez, por ser mi mayor ejemplo de amor, sacrificio y perseverancia. Por ser los pilares de mi vida, quienes con su apoyo incondicional y sus enseñanzas me han impulsado a alcanzar mis sueños, este triunfo también es suyo.

A mis hermanos, Mery y Kevin por su apoyo constante, su fé en mí y por ser mis compañeros de vida. Sus palabras de aliento y su confianza en mis capacidades han sido una motivación invaluable.

A mis abuelitas Zoila y Teresa, por su cariño incondicional, sus sabios consejos y por enseñarme con su ejemplo el valor del esfuerzo, la humildad y la gratitud.

A todos ellos, dedico este trabajo con gratitud, amor y la promesa de seguir honrando todo lo que han hecho por mí.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios, quien fue la fuente principal de fortaleza, amor y sabiduría infinita, por iluminar mi camino y permitirme alcanzar este logro con su infinita bondad y guía constante.

A mis padres, Alberto Guano y Marcela Nuñez, por ser mi ejemplo de vida, esfuerzo y perseverancia. Gracias por su amor incondicional, por sus sacrificios y por enseñarme a soñar en grande. Cada paso que doy es reflejo de las semillas que sembraron en mí, los amo profundamente.

A mi tutor de tesis el Dr. Michel Leiva Mora quien me guio en cada paso de la realización de mi proyecto.

A la Ing. Vanessa Frutos por su empatía y paciencia al guiarme en el procedimiento de mi proyecto de investigación.

A mis amigas Jessica y Wendy por su amistad sincera, por darme palabras de apoyo desde el inicio de clases.

A mi alma máter, la Universidad Técnica de Ambato por brindarme las herramientas y el espacio para crecer tanto académica como personalmente. Este logro es también fruto del esfuerzo conjunto de todos los que conforman esta institución.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I....1
INTRODUCCIÓN....1
MARCO TEÓRICO....4
Antecedentes investigativos....4
1.1. Categorías fundamentales....6
1.1.1. Organogénesis directa....6
1.1.2. Fase de establecimiento *in vitro*....7
1.1.3. Fase de multiplicación *in vitro*....8
1.1.4. Fase de enraizamiento *in vitro*....8
1.1.5. Reguladores de crecimiento....9
1.1.6. Métodos de propagación de *S. tuberosum* L....10
1.1.7. Fases de la micropropagación....10
Fase 0 o Fase preparativa....10
Fase I. Establecimiento *in vitro*....10
Fase II. Multiplicación *in vitro*....11
Fase III. Enraizamiento *in vitro*....11
Fase IV. Aclimatización *ex vitro*....11
1.1.8 Condiciones *in vitro*....12
1.2. Cultivo de papa....12
1.2.1 Origen....12
1.2.2 Taxonomía....13
1.3. Objetivos....13
CAPÍTULO II....15
METODOLOGÍA....15
2.1. Ubicación del experimento....15
2.2. Características del lugar....15
2.3. Equipos y materiales....15
2.3.1. Material experimental....15
2.3.2. Equipos....15
2.3.3. Materiales....16

2.4. Factores de estudio 18
2.4.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola. 18
2.4.1.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D). 18
2.4.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 18
2.4.2.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones de Thidiazuron (TDZ). 18
2.4.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 18
2.4.3.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido naftalenacético (ANA). 18
2.4.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa. 18
2.4.4.1. Factor Nº 1: Diferentes tipos de sustratos. 18
2.5. Diseño experimental..... 18
2.6. Manejo del experimento..... 18
2.7. Tratamientos..... 34
2.7.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola. 34
2.7.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 34
2.7.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 35
2.7.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa. 36
2.8. Variables respuesta..... 37
2.8.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola. 37
2.8.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 37
2.8.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 37

2.8.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa. 38
2.9. Procesamiento de la información 38
CAPÍTULO III 39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 39
3.1. Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.... 39
3.2. Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola..... 43
3.3. Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola. 48
3.4. Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa. 52
CAPITULO IV 55
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 55
4.1. CONCLUSIONES 55
4.2. RECOMENDACIONES 55
BIBLIOGRAFÍA 57
ANEXOS 62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.....13

Clasificación taxonómica del cultivo de papa S. tuberosum *L.*.....13

Tabla 2.....34

Concentraciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D) y el control......34

Tabla 3.....34

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de establecimiento in vitro.....34

Tabla 4.....35

Concentraciones del Thidiazuron (TDZ) y el control......35

Tabla 5.....35

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de multiplicación in vitro.....35

Tabla 6.....36

Concentraciones del ácido naftalenacético (ANA) y el control.....36

Tabla 7.....36

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de enraizamiento in vitro.....36

Tabla 8.....37

Suministraciones de sustrato de turba de sphagnum y tierra negra.....37

Tabla 9.....39

Influencia del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) en el porcentaje de establecimiento in vitro *y contaminación* in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días*.....39

Tabla 10.....40

Influencia del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) en la longitud de brotes de plantas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días.* 40

Tabla 11.....44

Efecto del Thidiazuron (TDZ) en el número de brotes in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días* 44

Tabla 12.....44

Efecto del Thidiazuron (TDZ) en la longitud de brotes in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días* 44

Tabla 13.....49

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en el número de raíces in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días.* 49

Tabla 14.....49

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en la longitud de raíces in vitro *de plantas* de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días.* 49

Tabla 15.....52

Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre la longitud de las plantas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de aclimatación a los 21 días.* 52

Tabla 16.....53

Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el porcentaje de plantas aclimatizadas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de aclimatación a los 21 días.* 53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 25

Diagrama del proceso que se efectuó para determinar el efecto de las diferentes concentraciones de 2,4D en la fase de establecimiento de segmentos nodales cortados de tallos de S. tuberosum L. *var. superchola* 25

Figura 2. 28

Diagrama del proceso que se realizó para identificar el efecto de las diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación in vitro *en el medio de cultivo MS* 28

Figura 3. 31

Diagrama del proceso que se realizó para identificar el efecto de las diferentes concentraciones de ANA en el enraizamiento in vitro *en el medio de cultivo MS.*.....31

Figura 4. 33

Diagrama del proceso que se llevó a cabo para determinar la influencia del tipo de sustrato en la fase de aclimatización de plantas micropropagadas. 33

Figura 5. 42

Efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de 2,4 D (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de 2,4 D (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de 2,4 D (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de 2,4 D (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de 2,4 D (E) y el control sin 2,4 D (F) a los 7, 14 y 21 días.* 42

Figura 6. 46

Efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la fase de multiplicación in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de TDZ (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de TDZ (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de TDZ (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de TDZ (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de TDZ (E) y el control sin TDZ (F) a los 7, 14 y 21 días.*.....46

Figura 7. 51

Efecto de diferentes concentraciones de ANA en la fase de enraizamiento in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de ANA (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de ANA (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de ANA (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de ANA (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de ANA (E) y el control sin ANA (F) a los 7, 14 y 21 días.* 51

Figura 8. 53

Plántulas de S. tuberosum *L. var. superchola adaptadas* ex vitro, *obtenidas mediante organogénesis directa en medio de cultivo MS, bajo la influencia de distintos tipos de sustratos: T1 Turba (100%), T2 turba + tierra negra en proporciones (1:1) a los 21 días.* 53

RESUMEN

La presente investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar cómo influyen diferentes concentraciones de 2,4-D, TDZ y ANA en la regeneración *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. var. superchola vía organogénesis directa. En la fase de establecimiento *in vitro* se analizó el efecto de distintas concentraciones de 2,4-D; en la fase de multiplicación *in vitro* se evaluó diferentes concentraciones de TDZ; en la fase de enraizamiento *in vitro* se emplearon diferentes concentraciones de ANA; y durante la aclimatización de las plantas se compararon dos tipos de sustrato. Se aplicó un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. Los segmentos nodales se establecieron exitosamente incluso sin auxinas exógenas, debido al contenido endógeno de fitohormonas, sin diferencias significativas en crecimiento ni contaminación. En la multiplicación *in vitro*, las concentraciones de TDZ no mostraron diferencias estadísticas en número ni longitud de brotes en comparación con el control, sugiriendo una autonomía hormonal en los explantes. En el enraizamiento *in vitro*, la concentración de 0,5 mg. L^{-1} de ANA generó el mayor número de raíces, aunque sin diferencias significativas en longitud. En la fase de aclimatización, el sustrato compuesto exclusivamente por turba mostró mejor desempeño. Con los resultados obtenidos, se logró producir plantas de *Solanum tuberosum* var. superchola aptas para continuar su desarrollo en condiciones *ex vitro.*

Palabras clave: ORGANOGÉNESIS DIRECTA, ESTABLECIMIENTO, MULTIPLICACIÓN, ENRAIZAMIENTO, ACLIMATIZACIÓN

ABSTRACT

This research was carried out with the aim of evaluating how different concentrations of 2,4-D, TDZ, and ANA influence the in vitro regeneration of *Solanum tuberosum* L. var. superchola through direct organogenesis. In the in vitro establishment phase, the effect of various concentrations of 2,4-D was analyzed; during the in vitro multiplication phase, different concentrations of TDZ were evaluated; in the in vitro rooting phase, different concentrations of ANA were applied; and during the acclimatization phase, two types of substrate were compared. A completely randomized design with ten replications per treatment was used. The nodal segments were successfully established even without exogenous auxins, due to their endogenous phytohormone content, with no significant differences in growth or contamination. In the in vitro multiplication phase, TDZ concentrations did not show statistical differences in shoot number or length compared to the control, suggesting hormonal autonomy in the explants. In the in vitro rooting phase, the concentration of 0.5 $mg \cdot L^{-1}$ ANA resulted in the highest number of roots, although without significant differences in root length. In the acclimatization phase, the substrate composed entirely of peat performed better. Based on the results obtained, Solanum tuberosum var. superchola plants were successfully produced and are suitable for further development under ex vitro conditions.

Keywords: DIRECT ORGANOGENESIS, ESTABLISHMENT, MULTIPLICATION, ROOTING, ACCLIMATIZATION**.**

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa tiene inicios en la región andina de Sudamérica donde se ha consolidado como un alimento fundamental a nivel global, gracias a sus propiedades nutritivas y a la variedad de formas en que puede utilizarse. Es una excelente fuente de energía por su contenido de carbohidratos complejos, y también proporciona vitaminas como la B6 y la C, junto con minerales esenciales como el potasio y el fósforo. Desde el punto de vista agrícola, destaca por su capacidad para desarrollarse en distintos climas y con altos niveles de producción (Rojas, 2007).

En la zona interandina del Ecuador, el cultivo de la papa representa un pilar esencial no solo para la seguridad alimentaria del país, sino también para el desarrollo económico y la cohesión social de numerosas comunidades rurales. Este tubérculo ocupa un lugar destacado dentro del sistema agrícola nacional, situándose como el tercer cultivo transitorio más importante en términos de producción, solo por detrás del maíz y el arroz (Rojas, 2007).

Cada año, en Ecuador se destinan aproximadamente 21 mil hectáreas para su cultivo, generando una cosecha cercana a las 48 mil toneladas métricas. Esta actividad no solo abastece el consumo interno, sino que también dinamiza mercados locales y regionales. Además, más de 42 mil familias ecuatorianas dependen directa o indirectamente de esta cadena productiva, participando en diferentes etapas del proceso, desde la preparación del terreno hasta la comercialización del producto. Por lo tanto, la papa constituye un cultivo estratégico que contribuye de manera significativa al sustento económico y al bienestar de miles de hogares en la región andina del país (INEC, 2019).

El notable éxito que ha alcanzado la producción mundial de papa en la actualidad está estrechamente ligado a diversos factores determinantes, entre los cuales destacan la

calidad genética de los cultivares y la sanidad de los tubérculos empleados. Uno de los elementos más influyentes en la obtención de altos rendimientos es la utilización de semillas certificadas, que garantizan no solo un buen desempeño agronómico, sino también resistencia frente a plagas y enfermedades. En los sistemas de propagación convencional, el uso de tubérculos como material de siembra puede representar un riesgo considerable, ya que con el tiempo tienden a acumular patógenos que reducen la productividad y afectan la sanidad del cultivo (Aksoy et al., 2021).

Por esta razón, un número creciente de agricultores están optando por priorizar el uso de semillas con alto vigor fisiológico, genético y comprobada calidad sanitaria, entendiendo que este aspecto es crucial para lograr cosechas más uniformes, rentables y sostenibles en el tiempo. Esta tendencia también refleja un mayor nivel de tecnificación y conciencia sobre el manejo integrado del cultivo, contribuyendo así a la estabilidad del sistema agrícola global (Aksoy et al., 2021).

Uno de los principales desafíos del cultivo de papa a nivel mundial es el tizón tardío, causado por *Phytophthora infestans* (Mont.) deBary, una enfermedad altamente destructiva que puede arruinar un cultivo en pocas semanas bajo condiciones húmedas y altas temperaturas. Esta y otras enfermedades se propagan fácilmente a través del agua, el suelo, la lluvia o el viento, afectando la calidad del material de siembra y reduciendo significativamente la producción. Por ello, los agricultores deben implementar medidas preventivas como el uso de variedades resistentes y prácticas de manejo sanitario para proteger sus cultivos y garantizar una producción sostenible (Sanchez, 2024).

Gracias a los avances en la biotecnología vegetal, la micropropagación mediante cultivo de tejidos se ha convertido en una alternativa promisoria para cubrir la creciente demanda global de semilla de papa de alta calidad. Esta técnica esencial en la agricultura moderna reemplaza los métodos tradicionales que tienen algunas desventajas, como: un alto riesgo de plagas y enfermedades, envejecimiento fisiológico, asincronía en la brotación y por ende una baja tasa de multiplicación (Hajare, 2021).

Hoy en día, la micropropagación cuenta con diversos protocolos de regeneración, tales como: organogénesis directa, organogénesis indirecta (que requiere la formación de callos), embriogénesis cigótica, embriogénesis somática y regeneración a partir de suspensiones celulares embriogénicas. Estos métodos permiten generar una gran cantidad de clones a partir de un solo explante, seleccionar características deseables, optimizar el uso del espacio en ensayos de campo y controlar enfermedades a través de técnicas de asepsia (Bustamante, 2022).

Las fitohormonas son sustancias generadas por las propias plantas que, aun estando presentes en mínimas cantidades, tienen un impacto significativo a nivel celular, modificando el desarrollo de los tejidos vegetales y regulando su crecimiento. Entre las más importantes se encuentran las auxinas, citoquininas, giberelinas, brasinoesteroides y el etileno (Alcántara & Acero, 2019). Sin embargo, en los procesos de propagación *in vitro* se emplean compuestos conocidos como reguladores de crecimiento, los cuales suelen ser creados de manera sintética, y la mayoría proviene de otros organismos, que por lo general tienen efectos fisiológicos más fuertes que sus análogos naturales.

En los últimos años, se ha demostrado que la técnica de micropropagación es la más rentable, especialmente para especies como la papa, que son altamente heterocigotas. Uno de los métodos de regeneración más efectivos es la organogénesis directa, que permite una multiplicación rápida sin la etapa de formación de callos, lo que minimiza las posibilidades de variación somaclonal en las plantas regeneradas (Verma, 2021).

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, el objetivo de esta investigación es crear una guía efectiva para la micropropagación de *Solanum tuberosum.* var. superchola mediante organogénesis directa, usando yemas brotadas de tubérculos como explantes. Para esto, se emplearán diversas concentraciones de reguladores de crecimiento como 2,4-D, TDZ y ANA en el medio de cultivo y agar. Además, se llevará a cabo un seguimiento adecuado de los protocolos y técnicas de esterilización de los explantes, con el fin de garantizar una favorable brotación, multiplicación, enraizamiento y posterior aclimatación de *S. tuberosum* L. var. superchola.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes investigativos

Puerres et al. (2010), en su artículo titulado "Propagación in vitro de papa identificados por descriptores mínimos brotan" mencionaron que el cultivo *in vitro* permite la propagación rápida de plantas, ofreciendo ventajas significativas como la mejora en la producción de material vegetativo, la eliminación de patógenos y la capacidad de regenerar clones a partir de material libre de enfermedades. Además, resaltan que la propagación *in vitro* mejora la calidad genética de las plantas, promoviendo la conservación de cultivos libres de virus.

Mollisaca (2018), a través de su artículo titulado "Efecto de tres concentraciones de ácido 2,4 diclorofenoxiacético en la formación de callos de papa" destacó que el cultivo *in vitro* presenta una técnica valiosa para la regeneración de papa, permitiendo la producción eficiente de material libre de enfermedades. Las concentraciones más altas de 2,4-D favorecieron la formación de callos en las variedades waycha, paceña e imilla negra, mostrando un excelente resultado en términos de calidad y cantidad en un ambiente controlado.

Castro et al. (2012), mencionaron en su revista titulada “Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa” que la técnica de organogénesis directa es altamente beneficiosa en la propagación *in vitro* de la papa, ya que minimiza la variación genética y epigenética, permitiendo la regeneración de clones de alta calidad. Esta técnica mejora la producción al reducir los costos de mantenimiento y el riesgo de enfermedades transmitidas por el material propagativo.

Según lo encontrado por Singh (2015), en su estudio titulado “Effect of antiviral chemicals on *in vitro* regeneration response and production of PLRV-free plants of potato”, se observó que utilizando segmentos nodales individuales se logró una regeneración *in vitro* de hasta un 90,97 %, generando brotes que llegaron a desarrollarse como plantas completas. Para este proceso se emplearon explantes con un solo nódulo,

recomendados para la propagación *in vitro* de papa en medio MS complementado con ácido naftalenacético (ANA).

Torres et al. (2017), en su artículo titulado "Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en la regeneración *in vitro* de *Solanum tuberosum*" encontraron que el ácido naftalenacético (ANA) promueve una mayor regeneración de brotes de papa en condiciones *in vitro*, siendo más efectivo a concentraciones bajas. El estudio resalta la importancia de ajustar las dosis de ANA y otras fitohormonas para maximizar la producción de plantas libres de virus y mejorar la productividad de los cultivos en condiciones controladas.

Zeid et al. (2021), en su artículo titulado "Evaluación *in vitro* de algunos cultivares de papa *(Solanum tuberosum* L.) de alto rendimiento bajo imposición de salinidad a nivel celular y orgánico" evaluaron cultivares de papa (*S. tuberosum* L.) sometidos a estrés salino, observando que la combinación de TDZ (4 mg/L) **y** GA_3 (0,5 mg/L) resultó óptima para la regeneración de brotes, tanto en número como en longitud. Esta combinación superó a la tradicional BAP + Kinetina, destacándose su efectividad incluso bajo condiciones estresantes. Se resaltó cómo TDZ promueve la síntesis de citoquininas endógenas, y GA_3 facilita la elongación celular, optimizando el proceso de organogénesis directa.

Según Ferrie & Brost (2024), a través de su artículo titulado "Mejora de la embriogénesis de microsporas en germoplasma diploide de papa (*Solanum tuberosum* L.)" mencionan que en el cultivo de papa se halló que una combinación de 0,5 mg/L NAA + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L kinetina fue la más efectiva para inducir callo, superando tratamientos con auxinas o citoquininas por separado. Un protocolo que utilizó 2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BA también resultó altamente eficaz. Además, se comprobó que reducir concentraciones de PGR tras el inicio favorece el desarrollo de estructuras embriogénicas.

Según Pal et al. (2011), en su artículo titulado "El nivel de auxina endógena es un determinante crítico para la regeneración adventicia *in vitro* de brotes en papa (*Solanum*

tuberosum L.)" destacaron que en su investigación en *S. tuberosum* var. Cecilia encontraron que los niveles endógenos de auxinas (IAA, IBA, NAA) y citoquininas (BAP, TDZ, Zeatina) afectan decisivamente la regeneración a partir de segmentos nodales. Además, destacaron que Zeatina y GA_3 favorecen número de nodos, hojas y brotes, mientras que un pulso de auxinas seguido de eliminación puede activar más eficientemente la organogénesis, sugiriendo un enfoque dinámico más que estático en el manejo hormonal.

Khadiga et al. (2009), en su artículo "Efecto del cultivar y regulador de crecimiento en la micropropagación *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.)" demostraron que en las variedades como Alpha y Agria evidenciaron que 3 mg/L TDZ + 0,1 mg/L NAA en explantes nodales produjo hasta 5,4 brotes por explante en Almera, mientras que en otros cultivares el TDZ fue menos efectivo. Además, concentraciones altas de NAA (0,5 mg/L) inducían callogénesis en lugar de brotes. Esto resalta la fuerte interacción cultivar-respuesta hormonal en la organogénesis directa.

Abeuova et al. (2020), en su artículo titulado "Regeneración directa de brotes de alta frecuencia a partir de cultivares comerciales de papa kazaja" reportaron la regeneración directa en cuatro cultivares kazajos usando explantes de internudos y hojas en DRM (MS sin hormonas). Evaluaron ocho combinaciones hormonales y confirmaron que la organogénesis directa puede lograrse sin pasar por callo intermedio, destacando la importancia de ajustar hormonas como BAP, TDZ y giberelinas.

1.1. Categorías fundamentales

1.1.1. Organogénesis directa

La organogénesis directa es un proceso biológico en el cual se forman órganos vegetativos directamente a partir de segmentos nodales de un explante sin pasar por la formación de callos. Este método es particularmente ventajoso porque preserva la estabilidad genética del material regenerado y reduce el tiempo necesario para obtener plantas completas (Forest, 2022).

En la organogénesis directa de papa (*S. tuberosum*), además de hojas, se pueden utilizar diversos explantes vegetativos por su capacidad regenerativa. Entre los más comunes están los nudos con yemas axilares, que contienen meristemos preformados; segmentos de tallo, que regeneran brotes en los nudos; discos o fragmentos de hojas, que inducen brotes en los bordes cortados; y peciolos, que pueden formar brotes directamente en su superficie. También se emplean secciones de tubérculos o microtubérculos con yemas, así como raíces adventicias en investigaciones específicas. La elección del explante depende de la variedad, el protocolo y los objetivos del estudio (Maldonado, 2014).

El éxito de este proceso depende de varios factores, como la elección del explante, el medio de cultivo, la suplementación con fitohormonas y seguir de manera adecuada el protocoló establecido. En el caso de la papa, los segmentos nodales son los explantes más utilizados debido a su capacidad de regeneración y facilidad de manejo en condiciones *in vitro* (Singh, 2015).

1.1.2. Fase de establecimiento *in vitro*

El establecimiento *in vitro* en *S. tuberosum* consiste en la introducción de explantes, como segmentos nodales, yemas apicales o discos foliares, en un medio de cultivo estéril, como es el caso del Medio B5 (Gamborg) y el MS (Murashige y Skoog), generalmente se utiliza el medio MS que puede ser suplementado con auxinas y citoquininas. Entre las auxinas tenemos (2,4-D, ANA, AIB) y el 6BAP como una citoquinina, el 2,4-D es ampliamente recomendado, especialmente para la inducción de callo y embriogénesis somática, debido a su alta eficiencia en concentraciones de 0.5–3 mg/L, aunque su uso debe ser preciso para evitar respuestas indeseadas (Lopez, 2019).

Entre las variedades de papa comúnmente más utilizadas se encuentran la superchola, cecilia, criolla y blanca, las cuales responden bien en condiciones de cultivo controladas a una temperatura de 22–25 °C, fotoperiodo de 16 horas luz/8 horas oscuridad e intensidad luminosa de 30–50 µmol/m^2/s^{-1}. El tiempo requerido para la fase de establecimiento varía según el objetivo, desde 2–4 semanas para inducción de callo hasta

6–8 semanas para organogénesis directa, siendo crucial una desinfección efectiva y un entorno libre de contaminantes para garantizar el éxito del cultivo (Lopez, 2019).

1.1.3. Fase de multiplicación *in vitro*

La multiplicación *in vitro* en *S. tuberosum* L. se basa en el uso de explantes como yemas axilares o apicales, los cuales se cultivan en medios enriquecidos con citoquininas como 6-BAP (6-bencilaminopurina) y TDZ (Thidiazuron). El TDZ es uno de los más recomendados debido a su alta efectividad en la inducción de brotes y su capacidad para reducir el tiempo de multiplicación, aunque su dosificación debe ser controlada para evitar efectos indeseados (Sotomayor, 2018).

Se utilizan principalmente medios como el MS (Murashige y Skoog), que proporciona los nutrientes necesarios para un buen desarrollo. Las concentraciones de citoquininas varían entre 0.1–2.0 mg/L, dependiendo del tipo de explante y la Variedad de papa. Las variedades como superchola, cecilia, criolla y blanca, son comunes en estos procesos. Las condiciones de cultivo se mantienen a una temperatura de 22–25 °C, con un fotoperíodo de 16 horas luz/8 horas oscuridad y una intensidad luminosa de 30–50 µmol/m²/s. El tiempo que se emplea en la fase de multiplicación varía entre 4 a 6 semanas (Sotomayor, 2018).

1.1.4. Fase de enraizamiento *in vitro*

La fase de enraizamiento *in vitro* en *S. tuberosum* L. se logra utilizando explantes como brotes, microesquejes o segmentos nodales, los cuales se cultivan en medios adecuados para estimular la formación de raíces. Se utilizan auxinas como: ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB), siendo el ANA uno de los más recomendados debido a su alta efectividad para promover un buen desarrollo de las raíces en concentraciones de 0.5–1.0 mg/L. Los medios de cultivo más comunes son los basados en MS o versiones modificadas de este medio, dependiendo de la especie y los objetivos del cultivo (Vollmer, 2019).

Para el enraizamiento *in vitro* de vitroplantas de papa (variedades como la superchola, cecilia y criolla), suelen utilizarse condiciones de cultivo que incluyen temperaturas entre 22–25 °C, fotoperiodos de 16 horas luz/8 horas oscuridad, intensidades lumínicas de 50–100 µmol/m^2/s^{-1}. El tiempo estimado para la fase de enraizamiento puede variar entre 28 a 42 días, esto va a depender de la variedad y las condiciones específicas del cultivo (Vollmer, 2019).

1.1.5. Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento son compuestos que modulan procesos como la división, elongación y diferenciación celular en las plantas. Entre los más utilizados en la organogénesis de papa se encuentran:

El 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) es una auxina sintética que es utilizada principalmente para inducir callogénesis y embriogénesis somática en cultivos *in vitro*. Promueve la división celular y la formación de callos, pero su uso excesivo puede inhibir el desarrollo de raíces. Se emplea en concentraciones de 0.5–3 mg/L y es especialmente efectivo cuando se combina con citoquininas. Su acción regula el balance hormonal de la planta, favoreciendo la regeneración de tejidos (Espinoza et al., 2012).

El TDZ (Thidiazuron) actúa como una citoquinina muy eficaz en la inducción de brotes en cultivos *in vitro*. Se utiliza principalmente para la multiplicación vegetativa debido a su capacidad para promover la formación de brotes sin necesidad de auxinas adicionales. Aunque es muy efectivo, el TDZ debe usarse con precaución, ya que concentraciones elevadas pueden provocar efectos fitotóxicos o deformaciones en los brotes. Generalmente, se emplea en concentraciones de 0.1–2.0 mg/L y es especialmente útil en variedades que no responden bien a otras citoquininas, pues su acción favorece la regeneración rápida y la proliferación de células meristemáticas (Erland et al., 2020).

El ANA (ácido naftalenacético) es una auxina, utilizada principalmente para promover el enraizamiento en cultivos *in vitro*. Es altamente eficaz en la formación de raíces en microesquejes y brotes, especialmente en concentraciones de 0.5–1.0 mg/L. El

ANA favorece el desarrollo de raíces adventicias al estimular la división celular en los meristemos radiculares. Se emplea en procesos de regeneración y propagación clonal de plantas. Aunque su uso es común, su efectividad depende de las condiciones del medio de cultivo y de la variedad de la planta. Su acción está relacionada con el equilibrio hormonal necesario para el crecimiento de raíces (Alcántara et al., 2019).

1.1.6. Métodos de propagación de *S. tuberosum* L.

El cultivo convencional de papa mediante tubérculos es ampliamente utilizado, pero presenta limitaciones como la transmisión de enfermedades y la baja calidad genética. Por esta razón, la micropropagación *in vitro* se ha convertido en una alternativa eficaz para la obtención de plantas libres de patógenos, homogéneas y con alto rendimiento (Barrera et al., 2018).

1.1.7. Fases de la micropropagación

Fase 0 o Fase preparativa

La Fase 0, también conocida como fase preparativa, es una etapa fundamental en los procesos de cultivo *in vitro*, ya que tiene como finalidad establecer un banco de plantas donantes que cumplan con criterios rigurosos de calidad fisiológica, juvenilidad y sanidad vegetal. Durante esta fase, se seleccionan y manejan cuidadosamente las plantas madre bajo condiciones controladas para garantizar que los explantes obtenidos sean aptos para la introducción al medio de cultivo, este manejo incluye prácticas fitosanitarias, nutricionales y ambientales adecuadas que aseguren la obtención de material vegetal libre de patógenos y con alto potencial de respuesta en las fases posteriores del proceso *in vitro* (Valle, 2019).

Fase I. Establecimiento *in vitro*

El establecimiento *in vitro* es la fase inicial de la micropropagación, en la cual se seleccionan y desinfectan los explantes, como segmentos nodales o yemas apicales, para su cultivo en un medio estéril. El objetivo principal en esta fase es eliminar cualquier posible contaminante y permitir que los explantes se adapten al ambiente controlado. El

medio de cultivo utilizado generalmente es el MS (Murashige y Skoog), enriquecido con nutrientes y reguladores de crecimiento, como auxinas (por ejemplo, 2,4-D) y citoquininas (como BAP), para inducir el crecimiento celular y la formación de brotes iniciales. La fase de establecimiento dura generalmente entre 2 y 4 semanas (Castillo, 2022).

Fase II. Multiplicación *in vitro*

En la fase de multiplicación, los brotes generados en el establecimiento *in vitro* se subcultivan en nuevos medios de cultivo para promover la formación de más brotes. Durante esta etapa, se utilizan citoquininas como 6 BAP o TDZ para estimular la división celular y la proliferación de brotes. Esta fase es crucial para obtener grandes cantidades de material vegetal, ya que cada brote subcultivado puede generar Varios nuevos brotes. Dependiendo de las condiciones, como la concentración de reguladores de crecimiento y la Variedad de la planta, la fase de multiplicación puede durar entre 4 y 8 semanas (Pineda, 2021).

Fase III. Enraizamiento *in vitro*

La fase de enraizamiento se centra en inducir la formación de raíces en los brotes obtenidos durante la multiplicación. En esta etapa, se utilizan auxinas como ANA (Ácido naftalenacético) o AIB (Ácido Indolbutírico) en concentraciones específicas para estimular el desarrollo de raíces. Los brotes se colocan en un medio con bajo contenido de nutrientes y sin citoquininas para favorecer el enraizamiento. La temperatura y las condiciones de luz se controlan para asegurar un adecuado desarrollo de las raíces. El enraizamiento puede tomar de 4 a 6 semanas dependiendo de la planta y las condiciones (Pineda, 2021).

Fase IV. Aclimatización *ex vitro*

La fase de aclimatación es el proceso final donde las plantas regeneradas *in vitro* son transferidas a condiciones ambientales externas para retornar de manera progresiva y gradual a las condiciones naturales. Durante esta fase, las plantas pasan de un ambiente controlado en el laboratorio a condiciones de vivero o campo, con un proceso gradual de

reducción de la humedad y de incremento progresivo la intensidad de la luz solar. Se colocan en macetas o bandejas con sustratos esterilizados y se protegen de la deshidratación y el estrés ambiental utilizando sistemas de riegos y frecuencias acorde con cada cultivo. El tiempo que suelen pasar las plantas en esta fase puede variar desde 2 a 4 semanas para el cultivo de papa y es esencial para asegurar la sobrevivencia futura en campo (Jiménez et al., 2001).

1.1.8 Condiciones *in vitro*

El medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS) es el más empleado en la propagación *in vitro* de papa. Este medio proporciona nutrientes esenciales como sacarosa, vitaminas y sales minerales, además de fitohormonas para inducir la regeneración (Rodríguez et al., 2004).

Para *S. tuberosum* L., las condiciones óptimas incluyen una temperatura de 24 °C, un fotoperiodo de 16 horas de luz, y una iluminación con tubos fluorescentes de 100 μmol $m^{-2}s^{-1}$. Estas condiciones aseguran el crecimiento adecuado de los explantes y la formación eficiente de brotes y raíces (Vollmer, 2019)

1.2. Cultivo de papa

1.2.1 Origen

La papa tiene su origen en la región de los Andes, específicamente en el altiplano peruano-boliviano, donde ha sido cultivada desde hace unos 8,000 años. Su domesticación como cultivo se produjo hace aproximadamente 3,000 años. Desde allí, se extendió a otras zonas de Sudamérica, como el sur de Chile, y luego fue llevada a Europa por los españoles en el siglo XVI (Rodríguez, 2009).

1.2.2 Taxonomía

Tabla 1.

Clasificación taxonómica del cultivo de papa S. tuberosum *L.*

Rango Taxonómico	Nombre Científico
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Género	*Solanum*
Especie	*Solanum tuberosum* L.

Fuente: (Morán, 2025).

1.3. Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de 2,4 D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *Solanum tuberosum* L. var. superchola.

Objetivos específicos

1. Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2. Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

3. Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

4. Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa.

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

Para evaluar el efecto de 2,4D, TDZ y ANA sobre la organogénesis directa de *S. tuberosum* L. var. superchola, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el sector el Tambo Querochaca, perteneciente al cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se encuentra localizado a 2865 msnm, las coordenadas geográficas son: 01° 24̓ 27”de latitud Sur y 78° 35̓ 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 segmentos nodales de yemas de tubérculos de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2.3.2. Equipos

- Microondas (PANASONIC)
- Cabina de flujo laminar (PURIFIER ^{TM} – BIOBASE)

- Refrigeradora (INDURAMA)
- Autoclave (MIDMARK)
- Balanza analítica (OHAUS – Pioneer ^{TM})
- pH metro (BANTE 900)
- Destilador de agua (DIRECT – Q/MILLOPONE)
- Micropipetas (THERMO SCIENTIFIC)

2.3.3. Materiales

- Tubérculos de papa variedad Superchola.
- Bandejas (4 litros).
- Frascos de vidrio (250 ml).
- Tubos de ensayo (20 mm*150mm) (25mm*250mm).
- 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 (BIG).
- Vasos de precipitación (50 ml. 100 ml).
- Bisturí (STAINLESS Nº4).
- Hojas de bisturí N.º 23.
- Pinza metálica punta recta (STAINLESS 18 cm).
- Fundas plásticas.
- Toallas de papel (FAMILIA).
- Marcadores permanentes (PELIKAN).
- Cofia quirúrgica.

- Bata quirúrgica.
- Zapatones desechables.
- Mascarillas.
- Etanol 70%.
- Hipoclorito de sodio al 5%.
- Crema lavavajilla (AXIÓN).
- Jabón líquido antibacterial (PROTEX).
- Agua desionizada.
- Medio de cultivo MS (Murashige y Skoog).
- Agar en polvo para cultivo de tejidos vegetales (Agar poder for tissue culture SRL).
- Sacarosa (Azúcar de mesa Juan Valdez).
- 2,4 D (Diclorofenoxiacético) (Phyto Tech).
- TDZ (Thidiazurón) (Phyto Tech).
- ANA (Ácido naftalenacético) (Phyto Tech).
- Hidróxido de sodio (LOBA CHEMIE).
- Ácido cítrico (SIGMA).
- Sustrato de Turba.
- Tierra negra.
- Vasos platicos de 150 ml.
- Fundas plásticas.
- Fungicidas como: Metalaxyl, Azoxystrobin, Difeconazol.

2.4. Factores de estudio

2.4.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2.4.1.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D).

2.4.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2.4.2.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones de Thidiazuron (TDZ).

2.4.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2.4.3.1. Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido naftalenacético (ANA).

2.4.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa.

2.4.4.1. Factor Nº 1: Diferentes tipos de sustratos.

2.5. Diseño experimental

Para cada ensayo se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 repeticiones.

2.6. Manejo del experimento

1. Para establecer segmentos nodales de tallos de *S. tuberosum* L. var. superchola, se utilizó el medio de cultivo MS enriquecido con distintas concentraciones de la auxina 2,4-D. El procedimiento seguido, tanto en el exterior como en el interior de la cabina de flujo laminar, se detalla en la Figura 1.

2. Para la multiplicación de brotes en el medio de cultivo MS, al cual se le incorporaron distintas concentraciones de TDZ, se llevó a cabo el protocolo ilustrado en la Figura 2,

que explica las actividades realizadas tanto fuera como dentro de la cabina de flujo laminar.

3. Para el enraizamiento de las plantas previamente multiplicadas se realizó en medio de cultivo MS complementado con diferentes concentraciones de ANA, siguiendo el procedimiento representado en la Figura 3, donde se detallan las actividades efectuadas dentro y fuera de la cabina de flujo laminar.

4. Para la aclimatación de las plantas micropropagadas en distintos tipos de sustrato se llevó a cabo conforme al procedimiento mostrado en la Figura 4, donde se describen las etapas realizadas para su adaptación en condiciones *ex vitro.*

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MS CON LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE 2,4 D



Colocar la mitad del total de ml a preparar por tratamiento de agua destilada en 6 matraces Erlenmeyer de 500 ml.





Pesar 4,43 g/L del cultivo MS (Murashige y Skoog) y disolver en el agua destilada**.**





Adicionar la auxina 2,4 D en el medio de cultivo MS en sus cinco concentraciones (0,50 mg. L^{-1}; 0,75 mg. L^{-1}; 1,0 mg. L^{-1}; 1,25 mg. L^{-1}; 1,50 mg. L^{-1}). Para el tratamiento de control no se agregará la auxina.





Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS posterior a ello aforar con la otra mitad de agua destilada. Medir y corregir el pH a 5.9 ya que al momento de autoclavar el medio de cultivo tiende a variar en 5,7 ± 2.





Pesar 7g/L de agar y disolver en el medio de cultivo MS, seguidamente colocar en el microondas y calentar hasta que la solución se torne transparente.





Dispensar 10 ml de la solución en los diferentes tubos de ensayo de vidrio, colocar papel aluminio como tapa y ajustarlas con ligas.



Colocar los tubos de ensayo de manera vertical en vasos de precipitación y llevarlos a la autoclave para esterilizar el medio para que posteriormente llevarlos a la cámara de flujo laminar.



PREPARACIÓN DE SEGMENTOS NODALES Y APLICACIÓN DE PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN



Seleccionar los segmentos nodales de las plantas de papa y cortarlas con ayuda de un bisturí.





Lavar los segmentos nodales con agua corriente y colocarlos en un vaso de precipitación.





Sumergir los segmentos nodales en una solución de etanol al 70 % durante 30 segundos.





Enjuagar 2 veces con agua destilada y sumergir en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 3 % durante 10 minutos.



Enjuagar 3 veces con agua destilada estéril.



Colocar los explantes en un vaso de precipitado estéril.



Colocar los explantes en una placa metálica y realizar los cortes dejando 1 a 2 nudos por explante.



MANEJO DE ENSAYO EN CÁMARA DE FLUJO LAMINAR



Esterilizar los materiales que se van a utilizar en el autoclave por un periodo de 40 minutos a 120ºC: pinzas, mango de bisturí, placa metálica, cuadros de papel aluminio, vasos de precipitación y agua destilada.





Desinfectar con alcohol al 70%: hojas de bisturí, mecheros de alcohol, ligas, atomizadores con alcohol, encendedor, tubos de ensayo con medio de cultivo e introducirlos en la cámara de flujo laminar.



Encender la luz UV de la cámara de flujo laminar durante 30 minutos, después encender los mecheros de alcohol.



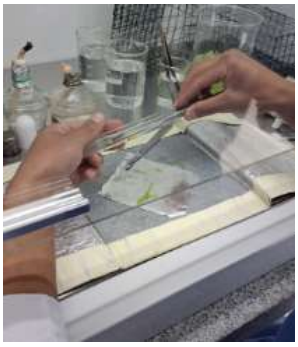
Colocar agua destilada en 2 vasos de precipitado y en otro vaso colocar alcohol, quitar el papel aluminio de los materiales y flamearlos en los mecheros.





Flamear las pinzas y el bisturí en el mechero de alcohol, enfriar en agua estéril y retirar el explante del vaso de precipitación, colocar el explante en la placa metálica y con el bisturí cortar los segmentos nodales (1 a 2 nudos por explante).





Destapar el tubo de ensayo y flamearlo en el mechero de alcohol, sembrar los explantes introduciéndolos en el medio de cultivo, seguidamente tapar con un nuevo papel aluminio y ajustar con ligas.





Finalmente, trasladar los tubos de ensayo sembrados al área de transferencia con una temperatura de 24 °C y luz blanca fluorescente.



Fuente: Guano, 2025.

Figura 1.

Diagrama del proceso que se efectuó para determinar el efecto de las diferentes concentraciones de 2,4D en la fase de establecimiento de segmentos nodales cortados de tallos de S. tuberosum L. *var. superchola*

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MS CON LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE TDZ



Colocar la mitad del total de ml a preparar por tratamiento de agua destilada en 6 matraces Erlenmeyer de 500 ml.





Pesar 4,43 g/L del cultivo MS (Murashige y Skoog) y disolver en el agua destilada.





Adicionar la citoquinina TDZ en el medio de cultivo MS en sus cinco concentraciones (0,50 mg/L^{-1}; 0,75 mg/L^{-1}; 1,0 mg/L^{-1}; 1,25 mg/L^{-1}; 1,50 mg/L^{-1}). Para el tratamiento de control no se agregará la citoquinina.





Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS posterior a ello aforar con la otra mitad de agua destilada. Medir y corregir el pH a 5.9 ya que al momento de autoclavar el medio de cultivo tiende a variar en 5,7 ± 2.





Pesar 7g/L de Agar y disolver en el medio de cultivo MS, seguidamente colocar en el microondas y calentar hasta que la solución se torne transparente.





Dispensar 10 ml de la solución en los diferentes tubos de ensayo de vidrio, colocar papel aluminio como tapa y ajustarlas con ligas.



Colocar los tubos de ensayo de manera vertical en vasos de precipitación y llevarlos a la autoclave para esterilizar el medio para que posteriormente llevarlos a la cámara de flujo laminar.



Autoclavar una bata, cofia, mascarilla, zapatones, pinza de acero inoxidable, mango de bisturí, agua destilada, frasco de vidrio, cuadritos de papel de aluminio, placa metálica de 25 cm^2.





Desinfectar la cabina de flujo laminar utilizando alcohol al 70 %, ubicar los materiales previamente autoclavados cerca de dos mecheros de alcohol y encender la luz UV durante 30 minutos antes de introducir las plantas *in vitro* para el proceso de siembra.





Lavar cuidadosamente las manos con agua y jabón, luego colocarse la cofia, mascarilla, zapatones y la bata antes de ingresar al área de inoculación.





Dentro de la cabina de flujo laminar, realizar el corte con el bisturí de las plantas establecidas *in vitro* en segmentos nodales que contengan una o dos yemas, y con el uso de una pinza se colocan verticalmente en los tubos de ensayo.





Colocar una tapa nueva de papel aluminio, asegurándola con una liga. Finalmente, trasladar los tubos de ensayo a la zona de transferencia, donde las plantas se desarrollarán a una temperatura de 24 °C bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz, proporcionada por tubos fluorescentes de luz blanca fría, con un flujo de fotones de 100 µmol m^{-2} s^{-1}.



Fuente: Guano, 2025.

Figura 2.

Diagrama del proceso que se realizó para identificar el efecto de las diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación in vitro *en el medio de cultivo MS*

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MS CON LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ANA



Colocar la mitad del total de ml a preparar por tratamiento de agua destilada en 6 matraces Erlenmeyer de 500 ml.





Pesar 4,43 g/L del cultivo MS (Murashige y Skoog) y disolver en el agua destilada.





Adicionar la auxina en el medio de cultivo MS en sus cinco concentraciones (0,50 mg/L^{-1}; 0,75 mg/L^{-1}; 1,0 mg/L^{-1}; 1,25 mg/L^{-1}; 1,50 mg/L^{-1}). Para el tratamiento de control no se agregará la auxina.





Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS posterior a ello aforar con la otra mitad de agua destilada. Medir y corregir el pH a 5.9 ya que al momento de autoclavar el medio de cultivo tiende a variar en 5,7 ± 2.





Pesar 7g/L de agar y disolver en el medio de cultivo MS, seguidamente colocar en el microondas y calentar hasta que la solución se torne transparente.





Dispensar 10 ml de la solución en los diferentes tubos de ensayo de vidrio, colocar papel aluminio como tapa y ajustarlas con ligas.



Colocar los tubos de ensayo de manera vertical en vasos de precipitación y llevarlos a la autoclave para esterilizar el medio para que posteriormente llevarlos a la cámara de flujo laminar.



Autoclavar una bata, cofia, mascarilla, zapatones, pinza de acero inoxidable, mango de bisturí, agua destilada, frasco de vidrio, cuadritos de papel de aluminio, placa metálica de 25 cm^2.





Desinfectar la cabina de flujo laminar utilizando alcohol al 70 %, ubicar los materiales previamente autoclavados cerca de dos mecheros de alcohol y encender la luz UV durante 30 minutos antes de introducir las plantas *in vitro* para el proceso de siembra.





Lavar cuidadosamente las manos con agua y jabón, luego colocarse la cofia, mascarilla, zapatones y la bata antes de ingresar al área de inoculación.





Dentro de la cabina de flujo laminar, realizar el corte con el bisturí de las plantas establecidas *in vitro* en segmentos nodales que contengan una o dos yemas, y con el uso de una pinza se colocan verticalmente en los tubos de ensayo.





Colocar una tapa nueva de papel aluminio, asegurándola con una liga. Finalmente, trasladar los tubos de ensayo a la zona de transferencia, donde las plantas se desarrollarán a una temperatura de 24 °C bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz, proporcionada por tubos fluorescentes de luz blanca fría, con un flujo de fotones de 100 µmol m^{-2} s^{-1}.



Fuente: Guano, 2025.

Figura 3.

Diagrama del proceso que se realizó para identificar el efecto de las diferentes concentraciones de ANA en el enraizamiento in vitro *en el medio de cultivo MS.*

PREPARACIÓN DE LOS DOS TIPOS DE SUSTRATO PARA LA ACLIMATACIÓN DE PLANTAS *EX VITRO*

En un recipiente colocar el sustrato de turba para humedecerlo con agua para luego colocar en los vasos de 150 ml.



Para el primer tratamiento colocar el sustrato de turba al 100% en los vasos de 150 ml.





Para el segundo tratamiento colocar un 50 % de sustrato de turba y un 50 % de tierra negra en un recipiente para mezclarlos homogeneamente y humedecerlo con agua. Colocar la mezcla (1:1) en los vasos de 150 ml.





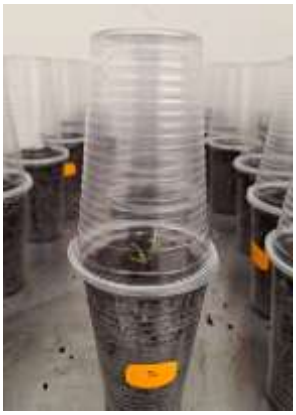
Cortar los segmentos nodales de plantas *in vitro* entre uno o más nudos con ayuda de una pinza y un visturí y colocar en un recipiente con agua destilada.





Colocar un segmento en cada unos de los vasos con su respectivo sustrato humecido anteriormente.





Por último, colocar un vaso trasparente en cada uno de los tratamientos, el mismo que servirá como cubierta y dejarlos en el área de aclimatación del laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UTA durante 21 días.





Fuente: Guano, 2025.

Figura 4.

Diagrama del proceso que se llevó a cabo para determinar la influencia del tipo de sustrato en la fase de aclimatización de plantas micropropagadas.

2.7. Tratamientos

2.7.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D).

Tabla 2

Concentraciones del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D) y el control.

CONCENTRACIONES DE 2,4D	
T1	0,5 mg. L^{-1}
T2	0,75 mg. L^{-1}
T3	1 mg. L^{-1}
T4	1,25 mg. L^{-1}
T5	1,5 mg. L^{-1}
CONTROL	SIN 2,4 D

Fuente: Guano, 2025.

Tabla 3

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de establecimiento in vitro.

CONCENTRACIÓN	
Medio de Cultivo MS	4,43 $g.L^{-1}$
Sacarosa	30 $g.L^{-1}$
Agar	7 $g.L^{-1}$
pH	5,7 ± 2

Fuente: Guano, 2025.

2.7.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Factor Nº 1: Diferentes concentraciones de Thidiazuron (TDZ).

Tabla 4

Concentraciones del Thidiazuron (TDZ) y el control.

CONCENTRACIONES DE TDZ	
T1	0,5 mg. L^{-1}
T2	0,75 mg. L^{-1}
T3	1 mg. L^{-1}
T4	1,25 mg. L^{-1}
T5	1,5 mg. L^{-1}
CONTROL	SIN TDZ

Fuente: Guano, 2025.

Tabla 5

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de multiplicación in vitro

CONCENTRACIÓN	
Medio de Cultivo MS	4,43 g.L-1
Sacarosa	30 g.L-1
Agar	7 g.L-1
pH	5,7 ± 2

Fuente: Guano, 2025.

2.7.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Factor Nº 1: Diferentes concentraciones del ácido 1-naftalenacético (ANA).

Tabla 6

Concentraciones del ácido naftalenacético (ANA) y el control

CONCENTRACIONES DE ANA	
T1	0,5 mg. L^{-1}
T2	0,75 mg. L^{-1}
T3	1 mg. L^{-1}
T4	1,25 mg. L^{-1}
T5	1,5 mg. L^{-1}
CONTROL	SIN ANA

Fuente: Guano, 2025.

Tabla 7

Concentración del medio de cultivo MS (Murashige y Skoog), Sacarosa, Agar y pH para la fase de enraizamiento in vitro

CONCENTRACIÓN	
Medio de Cultivo MS	4,43 g.L^{-1}
Sacarosa	30 g.L^{-1}
Agar	7 g.L^{-1}
pH	5,7 ± 2

Fuente: Guano, 2025.

2.7.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa.

Factor Nº 1: Diferentes tipos de sustratos.

T1.- Plantas con sustrato de turba de sphagnum al 100%

T2.- Plantas con sustrato con un 50% de turba de sphagnum y un 50% de tierra negra.

Tabla 8

Suministraciones de sustrato de turba de sphagnum y tierra negra

TIPOS DE SUSTRATO	
Turba de sphagnum	100 %
Turba de sphagnum + Tierra negra	(1:1)

Fuente: Guano, 2025.

2.8. Variables respuesta

2.8.1. Objetivo Nº 1: Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

- Porcentaje de segmentos nodales establecidos con éxito
- Porcentaje de contaminación
- Longitud de brotes en la fase de establecimiento

2.8.2. Objetivo Nº 2: Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

- Número promedio de brotes generados por explante
- Longitud promedio de los brotes generados

2.8.3. Objetivo Nº 3: Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

- Número de raíces por brotes
- Longitud promedio de las raíces

2.8.4. Objetivo Nº 4: Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa.

- Porcentaje de plantas aclimatizadas con éxito
- Altura de las plantas aclimatizadas

2.9. Procesamiento de la información

Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico InfoStat versión estudiantil, del 2018. Para ello se evaluaron los criterios de distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para aquellas variables cuyos datos cumplieron con ambos requerimientos se realizó un ANOVA de clasificación simple, se utilizó la prueba de Scheffé, la prueba de Tukey y la prueba t-student para muestras independientes para la separación de las medias. El nivel de significación utilizado fue de un 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Establecer el efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Al establecer el efecto de las concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento *in vitro* se pudo observar que entre los tratamientos no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de 2,4 D utilizadas, así como el control sin esta auxina sobre el porcentaje de establecimiento, la longitud de los brotes ni en la incidencia de contaminación de los brotes de *S. tuberosum* L. var. superchola establecidos *in vitro* (Tablas 9-10; Figura 5).

Tabla 9

Influencia del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) en el porcentaje de establecimiento in vitro *y contaminación* in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días*

TRATAMIENTOS	Establecimiento *in vitro* (%)			Contaminacion *in vitro* (%)		
	7 días	14 días	21 días	7 días	14 días	21 días
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
T1 – 2,4 D (0,5 mg. L^{-1})	100	100	100	0	0	0
T2–2,4 D (0,75 mg. L^{-1})	100	100	100	0	0	10
T3– 2,4 D (1 mg. L^{-1})	100	100	100	0	10	20
T4–2,4 D (1,25 mg. L^{-1})	100	100	90	0	20	40
T5 – 2,4 D (1,5 mg. L^{-1})	100	100	80	0	30	60
CONTROL	100	100	100	0	0	0

Fuente: Guano, 2025.

Tabla 10

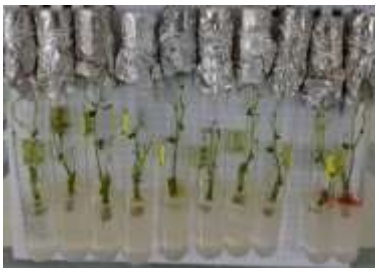
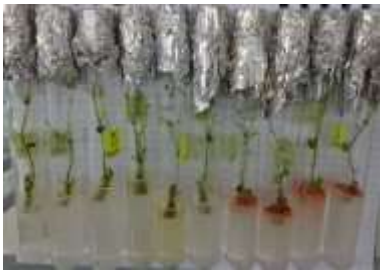
Influencia del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) en la longitud de brotes de plantas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días.*

TRATAMIENTOS	Longitud de brotes (mm)		
	7 días	14 días	21 días
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
T1 – 2,4 D (0,5 mg. L^{-1})	26,03 a	52,97 a	57,14 a
T2–2,4 D (0,75 mg. L^{-1})	25,15 a	51,44 a	55,61 a
T3– 2,4 D (1 mg. L^{-1})	23,30 a	48,22 a	53,21 a
T4–2,4 D (1,25 mg. L^{-1})	28,13 a	57,89 a	62,11 a
T5 – 2,4 D (1,5 mg. L^{-1})	22,79 a	48,32 a	53,07 a
CONTROL	24,97 a	53,47 a	63,86 a

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Scheffé para *p<0,05*

	7 días	14 días	21 días
A			

B			
C			
D			
E			

F			

Fuente: Guano, 2025.

Figura 5.

Efecto de diferentes concentraciones de 2,4 D en la fase de establecimiento in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de 2,4 D (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de 2,4 D (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de 2,4 D (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de 2,4 D (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de 2,4 D (E) y el control sin 2,4 D (F) a los 7, 14 y 21 días.*

Esta hipótesis encuentra sustento en los hallazgos de Raspor et al. (2020), quienes analizaron un perfil hormonal detallado de plantas de papa cultivadas *in vitro* y encontraron concentraciones considerables de ácido indolacético (IAA), incluso en condiciones libres de reguladores de crecimiento exógenos. Los autores señalaron que los niveles de IAA en tejidos nodales y foliares fueron suficientes para mantener el crecimiento vegetativo activo, lo cual podría explicar porque el aporte de 2,4-D no generó diferencias en nuestro estudio.

Por otra parte, Kolachevskaya et al. (2018), identificaron que las plantas de papa cultivadas *in vitro* presentaron un balance hormonal específico, caracterizado por concentraciones endógenas de auxinas y citoquininas que permiten un desarrollo vegetativo continuo sin necesidad de regulación exógena. Estos investigadores recalcaron que el cultivo *in vitro* induce una reprogramación hormonal en los tejidos, lo cual les permite adaptar su metabolismo a las condiciones artificiales del medio de cultivo.

Ambos estudios coinciden en que la acumulación de auxinas, especialmente IAA, es una característica común en cultivos *in vitro* de *S. tuberosum* L., incluso en medios básicos sin suplementación hormonal. Esta condición podría haber contribuido a que los segmentos nodales utilizados en nuestro experimento no requirieran de 2,4-D adicional para establecerse exitosamente, y también explicaría la escasa variación en la longitud de los brotes entre tratamientos.

Por lo tanto, los resultados obtenidos pueden interpretarse como una manifestación de la autonomía hormonal de los segmentos nodales de *S. tuberosum* L., que, gracias a su contenido endógeno de IAA, son capaces de iniciar la fase de establecimiento *in vitro* sin requerir auxinas sintéticas. Además, dado que el 2,4-D es una auxina sintética principalmente asociada a procesos de diferenciación y formación de callo, su presencia podría incluso ser contraproducente en etapas donde se busca un desarrollo ordenado de brotes.

3.2. Identificar el efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Al identificar el efecto de las concentraciones de TDZ en la fase de multiplicación *in vitro* se pudo observar que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de TDZ utilizadas, al compararlas entre sí, así como con el control sin TDZ sobre el número de brotes y la longitud de estos en las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en la fase de multiplicación (Tablas 11-12; Figura 6).

Tabla 11

Efecto del Thidiazuron (TDZ) en el número de brotes in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días*

TRATAMIENTOS	Número promedio de brotes		
	7 días	14 días	21 días
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
T1 – TDZ (0,5 mg. L^{-1})	1,50 a	1,80 a	2,00 a
T2– TDZ (0,75 mg. L^{-1})	1,30 a	1,40 a	1,70 a
T3– TDZ (1 mg. L^{-1})	1,40 a	1,70 a	2,20 a
T4– TDZ (1,25 mg. L^{-1})	1,30 a	1,50 a	1,60 a
T5 – TDZ (1,5 mg. L^{-1})	1,40 a	1,50 a	1,50 a
CONTROL	1,10 a	1,30 a	1,30 a

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Scheffé para *p<0,05*

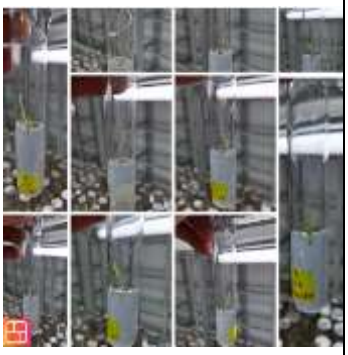
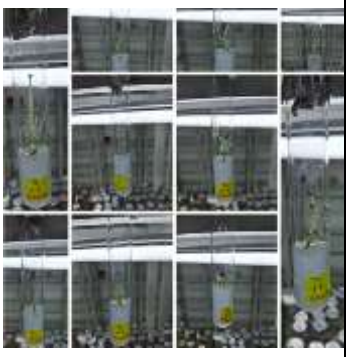
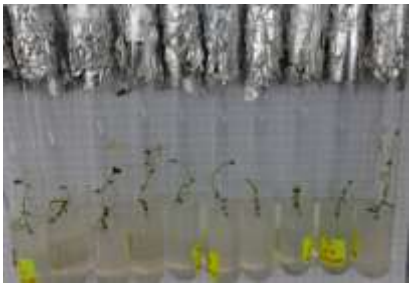
Tabla 12

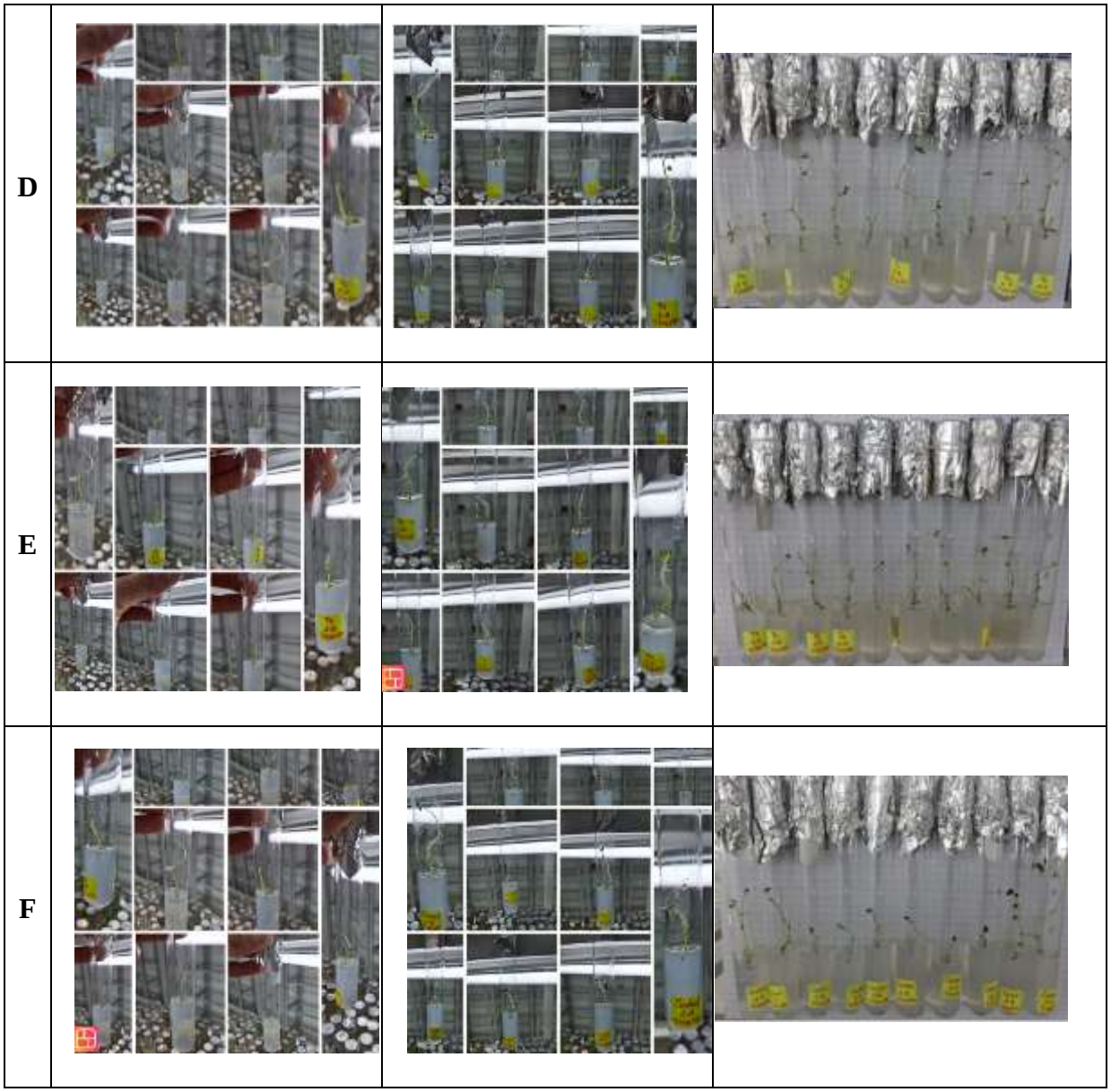
Efecto del Thidiazuron (TDZ) en la longitud de brotes in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días*

TRATAMIENTOS	Longitud de brotes (mm)		
	7 días	14 días	21 días
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
T1 – TDZ (0,5 mg. L^{-1})	18,13 a	24,27 a	31,67 a
T2– TDZ (0,75 mg. L^{-1})	16,47 a	28,33 a	36,34 a
T3– TDZ (1 mg. L^{-1})	15,42 a	29,03 a	37,51 a
T4– TDZ (1,25 mg. L^{-1})	15,72 a	29,59 a	36,89 a
T5 – TDZ (1,5 mg. L^{-1})	14,37 a	29,45 a	37,04 a
CONTROL	20,47 a	31,10 a	34,40 a

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Scheffé para *p<0,05.*

	7 días	14 días	21 días
A			
B			
C			



Fuente: Guano, 2025.

Figura 6.

Efecto de diferentes concentraciones de TDZ en la fase de multiplicación in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de TDZ (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de TDZ (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de TDZ (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de TDZ (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de TDZ (E) y el control sin TDZ (F) a los 7, 14 y 21 días.*

Los resultados mostraron que la adición de este regulador de crecimiento no tuvo un efecto significativo en el número de brotes ni en la longitud de estos. Este comportamiento sugiere que los explantes utilizados podrían haber contenido niveles endógenos suficientes de citoquininas activas para iniciar y sostener el proceso de multiplicación sin requerir aporte hormonal externo.

Kolachevskaya et al. (2018), quienes analizaron el estado hormonal de plantas de papa cultivadas *in vitro* y reportaron concentraciones moderadamente altas de citoquininas activas, especialmente isopenteniladenina (iP) y trans-zeatina (tZ), tanto en tallos como en órganos de almacenamiento. Según los autores, este contenido hormonal interno permite que los segmentos nodales mantengan una división celular adecuada sin depender de estímulos externos, lo cual podría explicar los resultados obtenidos.

Además, Pasternak et al. (2024), enfatizaron que la respuesta de los explantes a reguladores exógenos como el TDZ está fuertemente influenciada por el contenido hormonal endógeno. Cuando los tejidos ya poseen niveles fisiológicamente activos de citoquininas, el efecto de reguladores sintéticos puede ser mínimo o incluso nulo. Asimismo, se señala que el exceso de TDZ puede alterar la homeostasis hormonal o provocar efectos indeseados como la formación de multiyemas, lo que resalta la importancia de considerar el perfil hormonal del material vegetal antes de aplicar tratamientos exógenos.

De este modo, los resultados que se obtuvieron pueden interpretarse como una manifestación de la autonomía hormonal de los segmentos nodales de *S. tuberosum* L., que, gracias a su contenido endógeno de citoquininas, son capaces de sostener la fase de multiplicación *in vitro* sin necesidad de adicionar TDZ. Esta condición también podría explicar la escasa variación observada en la brotación y crecimiento entre tratamientos, lo cual sugiere que, en algunos casos, el uso de citoquininas sintéticas no se requiere.

3.3. Determinar la influencia de ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

Al determinar la influencia de diferentes concentraciones de ANA durante la fase de enraizamiento *in vitro*, se observó que no existieron diferencias estadísticas significativas a los 7 y 14 días después de la siembra entre los tratamientos con esta auxina sintética, ni con el control sin ANA, respecto al número y la longitud de raíces desarrolladas por los explantes de *S. tuberosum* L. var. superchola. Los resultados indican que la incorporación de ANA en el medio de cultivo no produjo un efecto diferencial sobre la respuesta radicular al evaluar a los 7 y 14 días.

Por otra parte, al evaluar a los 21 días se observó que la concentración de ANA de 0,5 mg. L^{-1} fue la que indujo el mayor número de raíces por planta. Sin embargo, las raíces formadas fueron pequeñas con longitudes entre 2 a 5 mm sin diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de ANA ni con el control. Este comportamiento sugiere que los segmentos nodales utilizados podrían haber contenido niveles endógenos suficientes de auxinas para sostener la fase de enraizamiento sin requerir la adición de ANA (Tablas 13-14; Figura 7).

Tabla 13

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en el número de raíces in vitro *de plantas de* S. tuberosum *L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días.*

TRATAMIENTOS	Número de raíces por explante
	21 días
	$\bar{x}$
T1 – ANA (0,5 mg. L^{-1})	7,80 a
T2– ANA (0,75 mg. L^{-1})	4,20 b
T3– ANA (1 mg. L^{-1})	3,20 b
T4– ANA (1,25 mg. L^{-1})	4,10 b
T5 – ANA (1,5 mg. L^{-1})	3,60 b
CONTROL	2,90 b

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey para *p<0,05*

Tabla 14

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en la longitud de raíces in vitro *de plantas* de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días.*

TRATAMIENTOS	Longitud promedio de raíces (mm)
	21 días
	$\bar{x}$
T1 – ANA (0,5 mg. L^{-1})	2,50 a
T2– ANA (0,75 mg. L^{-1})	4,20 a
T3– ANA (1 mg. L^{-1})	3,20 a
T4– ANA (1,25 mg. L^{-1})	4,10 a
T5 – ANA (1,5 mg. L^{-1})	3,60 a
CONTROL	2,90 a

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey para *p<0,05*

	7 días	14 días	21 días
A			
B			
C			
D			
E			

F			

Fuente: Guano, 2025.

Figura 7.

Efecto de diferentes concentraciones de ANA en la fase de enraizamiento in vitro *de segmentos nodales de* S. tuberosum *L. var. superchola: T1 con 0,5 mg. L^{-1} de ANA (A); T2 con 0,75 mg. L^{-1} de ANA (B); T3 con 1 mg. L^{-1} de ANA (C); T4 con 1,25 mg. L^{-1} de ANA (D); T5 con 1,5 mg. L^{-1} de ANA (E) y el control sin ANA (F) a los 7, 14 y 21 días.*

Con este comportamiento se corrobora los hallazgos en el cultivo de almera reportados por Khalafalla et al. (2010), quienes observaron que la inducción radicular fue más efectiva con IBA (1 mg·L^{-1}) que, con ANA, lo que sugiere que la capacidad morfogénica puede depender tanto del tipo de auxina aplicada como de la variedad de papa utilizada.

Por otro lado, Kumlay y Ercisli (2015) demostraron que en explantes nodales y foliares de papa, el enraizamiento fue óptimo cuando se utilizaron combinaciones de ANA y citoquininas, en lugar de ANA en solitario. Esto refuerza la idea de que la presencia de citoquininas junto a las auxinas es esencial para el equilibrio hormonal requerido en la inducción de raíces.

En el estudio sobre propagación *in vitro* de papa realizado por Othman et al. (2016), se mostró que ANA a baja concentración (0,25 mg. L^{-1}) produjo una media de ocho raíces por explante. Esto indica que ciertas auxinas sintéticas pueden ser más eficientes en concentraciones bajas, y que concentraciones altas de ANA, es decir, (≥1 mg. L^{-1}) podrían resultar ineficaces o incluso inhibidoras para la formación de raíces.

En conjunto, estos autores coinciden en que la falta de respuesta de *S. tuberosum* var. superchola al ANA puede deberse a su autonomía hormonal endógena, a la sensibilidad específica de la variedad, al tipo de auxina utilizada y a la ausencia de regulación hormonal complementaria necesaria para inducir de manera efectiva la rizogénesis. Por tal razón, los resultados obtenidos reflejan que, al igual que en otros cultivares, *S. tuberosum* L. podría no requerir ANA para enraizar *in vitro* y podría beneficiarse más del uso de auxinas alternativas como IBA, especialmente cuando se combinan con citoquininas.

3.4. Aclimatizar las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola obtenidas mediante la organogénesis directa.

Al usar como sustrato la turba al 100% se incrementó la altura promedio y el porcentaje de supervivencia de las plantas de *S. tuberosum* L. aclimatizadas (Tablas 15-16, figura 8).

Tabla 15

Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre la longitud de las plantas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de aclimatación a los 21 días.*

TRATAMIENTOS	**Altura promedio de las plantas (mm)**
	21 días
	$\bar{x}$
T1 – Turba 100%	56,25 a
T2– 50% Turba + 50% Tierra negra	43,28 b

Fuente: Guano, 2025.

En una misma columna los tratamientos que no compartan letras en común fueron diferentes estadísticamente según la prueba de t-student para muestras independientes con $p<0,05$

Tabla 16

Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el porcentaje de plantas aclimatizadas de S. tuberosum *L. var. superchola en fase de aclimatación a los 21 días.*

TRATAMIENTOS	**Porcentaje de plantas aclimatizadas con éxito (%)**
	21 días
T1 – Turba 100%	100%
T2– 50% Turba + 50% Tierra negra	90%

Fuente: Guano, 2025.

Plantas aclimatadas *ex vitro* a los 21 días después de la siembra	
T1 (100% turba)	**T2 (50% turba + 50% tierra negra)**
	

Fuente: Guano, 2025.

Figura 8.

Plántulas de S. tuberosum *L. var. superchola adaptadas* ex vitro*, obtenidas mediante organogénesis directa en medio de cultivo MS, bajo la influencia de distintos tipos de sustratos: T1 Turba (100%), T2 turba + tierra negra en proporciones (1:1) a los 21 días.*

Durante la fase de aclimatización de *S. tuberosum* L., el éxito en la adaptación de las plántulas *in vitro* al ambiente *ex vitro* depende significativamente del tipo de sustrato empleado. Según Eisa et al. (2024), los sustratos con alta porosidad y buena capacidad de retención de agua, como los formulados a base de turba, proporcionan condiciones óptimas para el desarrollo radicular y la adaptación gradual de las plantas al entorno no estéril. La turba permite un balance adecuado entre aireación y humedad, minimizando el estrés hídrico en esta etapa. Además, estos autores destacan que un sustrato bien estructurado reduce el riesgo de infecciones y facilita el establecimiento fisiológico de las plantas al cambiar del ambiente de cultivo controlado a condiciones de vivero o campo.

Jiménez et al. (2001), también enfatizaron que el sustrato juega un papel crucial en la sobrevivencia y crecimiento de plantas micropropagadas. En su estudio sobre diferentes especies cultivadas *in vitro*, observaron que la turba, al ser un material orgánico con alta capacidad de intercambio catiónico y buena retención de nutrientes, favorece una transición más eficiente durante la aclimatación. Estos autores concluyen que los sustratos con características físicas y químicas similares a las de la turba mejoran el enraizamiento funcional y promueven el desarrollo de estructuras fisiológicamente activas, lo cual repercute positivamente en la tasa de sobrevivencia de las plantas aclimatizadas.

Con base a lo mencionado por los autores, los resultados obtenidos reflejan claramente los beneficios de utilizar sustratos a base de turba, puesto que, las plantas adaptadas a este sustrato mostraron mayor sobrevivencia, en comparación con el tratamiento 2, el cual contenía 50% turba + 50% tierra negra (1:1) Esta respuesta favorable puede explicarse por la estructura porosa del sustrato, su capacidad para retener agua sin provocar la muerte radicular, y su bajo contenido de microorganismos patógenos, lo cual redujo el estrés abiótico durante el proceso de aclimatización.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de 2,4 D utilizadas en el estudio no mostraron efecto sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2. Las concentraciones de TDZ usadas en los ensayos no mostraron efecto significativo sobre la multiplicación *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

3. No se observó un efecto significativo del ANA sobre el enraizamiento *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. superchola.

4. El sustrato compuesto a base de Turba de sphagnum al 100% fue quien favoreció la longitud de los brotes y el porcentaje de supervivencia de las plantas aclimatizadas de *S. tuberosum* L. var. superchola.

4.2. RECOMENDACIONES

1. No utilizar auxinas sintéticas, pero si sacarosa para mejorar la calidad de las plantas en la fase de establecimiento *in vitro* utilizando como explantes segmentos nodales de *S. tuberosum* L. var. superchola.

2. No utilizar TDZ en la multiplicación *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola y determinar previamente mediante cromatografía de alta resolución y espectrometría de masa los contenidos endógenos de citoquininas naturales presentes en estos materiales vegetales.

3. Utilizar concentraciones más bajas de ANA o utilizar el AIB como inductor de enraizamiento sobre las plantas multiplicadas de *S. tuberosum* L. var. superchola.

4. Utilizar el sustrato compuesto a base de Turba de sphagnum al 100% para la aclimatización de *S. tuberosum* L. var. superchola.

BIBLIOGRAFÍA

Abeuova, L., Kali, B., Rakhimzhanova, A., & Manabayeva, S. (2020). Regeneración directa de brotes de alta frecuencia a partir de cultivares comerciales de papa kazaja. https://www.researchgate.net/figure/Direct-regeneration-of-potato-plants-through-direct-shoot-organogenesis-cv-Astanalyk-is_fig1_342900572

Alcántara, J.S, Acero, J., Alcántara, J.D., Sánchez, R.M., (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA.* 17 (32): 109-129 http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S179424702019000200109

Barrera, E.J. (2018). Propagation and in vitro tuberization of two varieties of potato. *Ciencia en Desarrollo. 9 (1): 21-31.* http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012174882018000100021

Bustamante, K. (2022). Organogénesis directa e indirecta a partir de segmentos nodales, hojas y raíces de Eugenia involucrata DC. *Revista de la Facultad de agronomía*. 121 (2) https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/14159

Castillo, A. (2022). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf

Castro, I., Agramonte, D., Alvarado, Y., & Pugh, T. (2012). Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla. *Biotecnologia Vegetal, 12*(1), 8-11. https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnologiavegetal/2012/vol12/no1/1.pdf

Eisa, E., Davila, D., & Ordogh, M. (2024). Enhancing Acclimatization Conditions for Vriesea splendens 'Fire': A Comparative Analysis of Substrate Effects on Growth and Survival. https://www.mdpi.com/2223-7747/14/2/172?utm_source

Erland, L.A.E., Giebelhaus, R.T., Victor, J.M.R., Murch, S.J., Saxena, P.K. (2020). The Morphoregulary Role of Thidiazuron: Metabolomics-Guilded Hypothesis Generation for Mechanisms of Activity. *Biolmolecules.* 28; 10 (9*): 1253.* https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7564436/

Espinoza, A., Silva, J., Sariego, S., Cholo Masapanta, L., Delgado, H. (2012). Efecto del tipo de explante y la concentración de ácido 2,4-diclorofenoxiacético en la formación de callos en *Morus alba* L. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000400006

Ferrie, A., & Brost, J. (2024). Mejora de la embriogénesis de microsporas en germoplasma diploide de papa (Solanum tuberosum L. ssp. tuberosum). *Plant Cell Tiss Organ Cult, 157*(40). https://doi.org/10.1007/s11240-024-02768-8

Forest, M. J. (2022). Efecto de tres ilicitores en el cultivo de Papa *(Solanum Tuberosum L)* en condiciones *in vitro* y en campo. http://eprints.uanl.mx/23188/1/1080127281.pdf

Hajare, S. (2021). Effect of Growth Regulators on In Vitro Micropropagation of Potato *(Solanum tuberosum L.)* Gudiene and Belete Varieties from Ethiopia. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2021/5928769

INEC. (2019). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2021/Bolet%C3%ADn%20t%C3%A9cnico.pdf

Jiménez, F., Peñalver, D., Ponce, J., Aguilar, D., & Martínez, O. (2001). Aclimatización de plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. variedad Desiree. *1*(2), 103-108. https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/71/html

Khadiga, G., Elaleem, R., Modawi, R., & Khalafalla, M. (2009). Efecto del cultivar y regulador de crecimiento en la micropropagación *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Americano-Eurasiática de Agricultura Sostenible, 3*(1), 487-492.https://www.researchgate.net/publication/228357633_Effect_of_Cultivar_and_Growth_Regulator_on_In_vitro_Micropropagation_of_Potato_Solanum_tuberosum_L?utm

Khalafalla, M., Elaleem, K., & Modawi, R. (2010). Callus formation and organogenesis of potato *(Solanum tuberosum L.)* cultivar Almera. https://www.researchgate.net/publication/285598205_Callus_formation_and_organogenesis_of_potato_Solanum_tuberosum_L_cultivar_Almera

Kolachevskaya, O., Seergeva, L., Getman, I., & Lomin, S. (2018). Core features of the hormonal status in vitro grown potato plants. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6103274/

Kumlay, A. y. (2015). Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (Solanum tuberosum L.) stem node and leaf explants under long-day conditions. https://www.researchgate.net/publication/281753370_Callus_induction_shoot_proliferation_and_root_regeneration_of_potato_Solanum_tuberosum_L_stem_node_and_leaf_explants_under_long-day_conditions

Lopez, G. (2019). Establecimiento *in vitro* de papa *(Solanum Tuberosum)*- variedad Purén- a partir de meristemos. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/85d1488e-5d04-46b59655-c9c6eb6b1206/content

Maldonado, L. (2014). Inducción organogénica de *Jatropha curcas* L. a partir de hojas jóvenes. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682015000100004#:~:text=En%20la%20inducci%C3%B3n%20de%20organog%C3%A9nesis,et%20al.%2C%202008).

Mollisaca. (2018). Efecto de tres concentraciones de ácido 2,4 diclorofenoxiacético en la formación de callos de papa. *Revista de Biotecnología Vegetal*, 18(2), 120-127.: https://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/38461

Morán, J. (2025). Taxonomía de La Papa. Scribd: https://es.scribd.com/document/443509822/Taxonomia-de-la-papa

Othman, A., Abido, I., & Jabal, A. (2016). In vitro Propagation and Ex vitro Acclimatization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Using Nodal Cutting Explants. https://jalexu.journals.ekb.eg/article_188577.html

Pal, A., Acharya, K., & Ahuja, P. (2011). El nivel de auxina endógena es un determinante crítico para la regeneración adventicia in vitro de brotes en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista de bioquímica y biotecnología vegetal, 21*(2). https://www.researchgate.net/publication/216540617_Endogenous_auxin_level_is_a_critical_determinant_for_in_vitro_adventitious_shoot_regeneration_in_potato_Solanum_tuberosum_L?utm

Pasternak, T., & Steinmacher, D. (2024). Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture In Vitro. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38276784/

Pineda, A. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento *in vitro* de papa chaucha *(solanum tuberosum).* file:///C:/Users/HP/Downloads/adminojs,+233-1255-1-CE.pdf

Puerres, J. R. (2010). Propagación *in vitro* de papa identificados por descriptores mínimos brotan. *Agronomía Colombiana, 28(3), 431-438.* https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/20

Raspor, M., Václav, M., Slavica, N., & Petre, D. (2020). Endogenous levels of cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid in in vitro grown potato: *A contribution to potato hormonomics.* https://www.nature.com/articles/s41598-020-60412-9

Rodríguez, A. .. (2004). Influencia de los medios de cultivo en la micropropagacion de platano *(Musa spp.)* y malanga *(Xanthosoma sagittifolium Schoot.).* https://www.redalyc.org/pdf/1932/193230179004.pdf

Rodríguez, L. (2009). Origins and evolution of cultivated potato. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012099652010000100002

Rojas, O. N. (2007). Evaluación de micorrizas arbusculares en interacción con abonos orgánicos como coadyuvantes del crecimiento en la producción hortícola del Valle Alto de Cochabamba, Bolivia. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1683-07892007000200005&script=sci_arttext

Sanchez, M. (2024). Efecto de los reguladores de crecimiento en la multiplicación *in vitro* de papa *(Solanum tuberosum).* https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/9353/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Singh. (2015). Efecto de los antivirales en la respuesta regenerativa *in vitro* y la producción de plantas de papa libres de PLRV. J. Crop Sci. *Biotechnol.18 , 341–348.* https://link.springer.com/article/10.1007/s12892-015-0069-x#citeas

Sotomayor, L. (2018). Técnicas de multiplicación rápida en papas. https://biblioteca.inia.cl/server/api/core/bitstreams/34584b81-2f6b-4462-8fdf-fdfb6a05b14b/content#:~:text=Multiplicaci%C3%B3n%20in%20vitro.&text=Esta%20t%C3%A9cnica%20consiste%20en%20plantar,proceso%20fisiol%C3%B3gico%20denominado%20dominancia%20apical.&

Torres, J., Alvarado, G., & Hernández, A. (2017). Regeneración *in vitro* de cuatro cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) A partir de secciones de hoja y en presencia de diferentes reguladores de crecimiento. *Boletín Del Centro De Investigaciones Biologicas*, 50 (2), 134-146. https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/22902

Valle, O. (2019). Elección, preparación y establecimiento de los explantos para iniciar un cultivo bajo condiciones de asepsia. https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/41271/mod_resource/content/1/2_TP_Elecci_n_del_explanto_y_desinfecci_n.pdf

Verma, V. (2021). Optimization of efficient direct organogenesis protocol for *Punica granatum L.* cv. Kandhari Kabuli from mature leaf explants. https://link.springer.com/article/10.1007/s11627-020-10111-x

Vollmer, R. (2019). Propagación *in vitro* de papa. https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/cef1e6b8-a172-49f9-9182-6c6e4da6957b/content

Zeid, I., Soliman, H., & Metwali, E. (2021). Evaluación *in vitro* de algunos cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) de alto rendimiento bajo imposición de salinidad a nivel celular y orgánico. *National Library of Medicine*: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9072914/?utm_source

ANEXOS

1. Establecimiento *in vitro*

Influencia del ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D) en la longitud de brotes de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días.

- **A los 7 días**

Longitud de brotes en la fase de es

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,08	0,00	25,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	186,34	5	37,27	0,90	0,4851
Tratamiento	186,34	5	37,27	0,90	0,4851
Error	2225,08	54	41,21		
Total	2411,43	59			

- **A los 14 días**

Longitud de brotes en la fase de e1

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,08	0,00	23,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	658,47	5	131,69	0,91	0,4827
Tratamiento	658,47	5	131,69	0,91	0,4827
Error	7830,28	54	145,01		
Total	8488,75	59			

- **A los 21 días**

Longitud de brotes en la fase de e2

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,13	0,05	19,57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1034,06	5	206,81	1,63	0,1667
Tratamiento	1034,06	5	206,81	1,63	0,1667
Error	6834,31	54	126,56		
Total	7868,37	59			

2. Multiplicación *in vitro*

Efecto del Thidiazuron (TDZ) en la longitud de brotes *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días

- **A los 7 días**

Longitud de brotes en la fase de es

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,09	3,9E-03	40,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	242,78	5	48,56	1,05	0,4004
Tratamiento	242,78	5	48,56	1,05	0,4004
Error	2506,56	54	46,42		
Total	2749,34	59			

- **A los 14 días**

Longitud de brotes en la fase de e1

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,04	0,00	39,63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	269,49	5	53,90	0,42	0,8337
Tratamiento	269,49	5	53,90	0,42	0,8337
Error	6951,16	54	128,73		
Total	7220,65	59			

- **A los 21 días**

Longitud de brotes en la fase de e2

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Longitud de brotes en la f..	60	0,03	0,00	32,60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	247,87	5	49,57	0,37	0,8688
Tratamiento	247,87	5	49,57	0,37	0,8688
Error	7289,75	54	135,00		
Total	7537,61	59			

Efecto del Thidiazuron (TDZ) en el número de *brotes in vitro* de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de multiplicación a los 7, 14 y 21 días

- **A los 7 días**

Número promedio de los brotes gener

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Número promedio de los bro..	60	0,07	0,00	35,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,93	5	0,19	0,81	0,5457
Tratamiento	0,93	5	0,19	0,81	0,5457
Error	12,40	54	0,23		
Total	13,33	59			

- **A los 14 días**

Número promedio de los brotes gene1

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Número promedio de los bro..	60	0,08	0,00	40,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,73	5	0,35	0,88	0,4989
Tratamiento	1,73	5	0,35	0,88	0,4989
Error	21,20	54	0,39		
Total	22,93	59			

- **A los 21 días**

Número promedio de los brotes gene2

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Número promedio de los bro..	60	0,19	0,12	37,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,48	5	1,10	2,61	0,0348
Tratamiento	5,48	5	1,10	2,61	0,0348
Error	22,70	54	0,42		
Total	28,18	59			

3. Enraizamiento *in vitro*

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en el número de raíces *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Número de raìces por expla..	60	0,57	0,53	34,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	159,60	5	31,92	14,25	<0,0001
Tratamientos	159,60	5	31,92	14,25	<0,0001
Error	121,00	54	2,24		
Total	280,60	59			

Efecto del ácido naftalenacético (ANA) en la longitud de raíces *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de enraizamiento a los 21 días.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Longitud promedio de las r..	60	0,19	0,11	39,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	22,68	5	4,54	2,45	0,0449
Tratamiento	22,68	5	4,54	2,45	0,0449
Error	99,90	54	1,85		
Total	122,58	59			

4. Aclimatización *ex vitro*

Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre la longitud de las plantas de *S. tuberosum* L. var. superchola en fase de aclimatación a los 21 días.

Prueba T para muestras Independientes

Clasific	Variable	Grupo 1	Grupo 2	n(1)	n(2)	Media(1)	Media(2)	Media(1)-Media(2)	LI(95)	LS(95)	pHomVar	T	p-valor	prueba
Tratamientos	Altura de plantas (mm)	{T1}	{T2}	21	20	56,25	43,28	12,98	10,54	15,41	0,1500	10,77	<0,0001	Bilateral