

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



TEMA

“Influencia de fitohormonas en la regeneración *in vitro* de
Solanum tuberosum L. vía organogénesis directa”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
COMO REQUERIMIENTO PARA OBTENER EL GRADO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

AUTOR

PEDRO IVÁN ALEAGA VILLACÍS

TUTOR

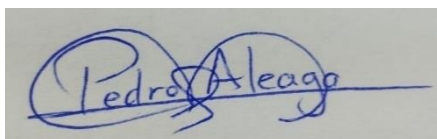
Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

AMBATO - ECUADOR

2022

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“El suscrito, PEDRO IVÁN ALEAGA VILLACÍS, portador de la cédula de identidad número. 1804394888, libre y voluntariamente declaró que el informe final del Proyecto de investigación titulado “**INFLUENCIA DE FITOHORMONAS EN LA REGENERACIÓN IN VITRO DE *Solanum tuberosum* L. VÍA ORGANOGÉNESIS DIRECTA**” es original, auténtico y personal, En la virtud, declaro que el contenido de mi sola responsabilidad legal y académica, a excepción donde se indican las fuentes de información consultadas”

A handwritten signature in blue ink, reading "Pedro Aleaga", is displayed within a rectangular grey box. The signature is stylized with large, overlapping loops for the letters 'P' and 'A'.

.....

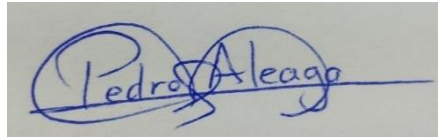
PEDRO IVÁN ALEAGA VILLACÍS

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este informe final del Proyecto de Investigación titulado **“INFLUENCIA DE LAS FITOHORMONAS EN LA REGENERACIÓN *IN VITRO* DE *Solanum tuberosum* L. VÍA ORGANOGÉNESIS DIRECTA”**, 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 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 la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este informe final o parte de él”.



.....

PEDRO IVÁN ALEAGA VILLACÍS

**“INFLUENCIA DE FITOHORMONAS EN LA REGENERACIÓN *IN VITRO* DE
Solanum tuberosum L. VÍA ORGANOGÉNESIS DIRECTA”**

REVISADO POR:

.....

**ING. MICHEL LEIVA MORA DR. C.
TUTOR**

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

FECHA: 01/03/2023

.....

**PhD. PATRICIO NÚÑEZ
PRESIDENTE TRIBUNAL**

FECHA: 01/03/2023

.....

**ING. HERNÁN ZURITA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

FECHA: 01/03/2023

.....

**ING. SEGUNDO CURAY
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

DEDICATORIA

Primeramente, doy gracias a Dios por haberme brindado la salud, la vida para continuar con mis sueños y haber llegado a este punto de mi vida donde he cumplido con una más de mis metas en mi formación estudiantil y como persona, quiero agradecer también a mis padres Bolívar Aleaga y Amelia Villacís por su apoyo incondicional en cada uno de mis logros, por cada palabra de aliento y cariño que me han brindado cuando lo he necesitado.

A mi hermana que siempre me ha brindado su apoyo incondicional y ha estado siempre a mi lado siendo mi ejemplo para seguir junto a su esposo y hijos que me han regalado los mejores momentos de alegría de mi vida.

A mi hermano que ha sido mi compañero de juegos, mi amigo en el cual siempre he podido confiar me brindado su apoyo con una palabra de cariño y aliento.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de estar aquí presente junto a mi Familia y mis seres queridos por brindarme la salud y la oportunidad de cumplir mis metas.

A la Universidad técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por brindarme la oportunidad de estudiar y formarme como profesional en mi carrera universitaria, por cada enseñanza y momentos compartidos que me han permitido llegar a obtener mi título de tercer nivel como Ingeniero Agrónomo.

A mi tutor de tesis el Doctor Michel Leiva Mora. quien con su conocimiento me apoyó y me guio en la realización de mi proyecto.

A mis compañeros y amigos a han sido como una familia a lo largo de mi carrera universitaria compartiendo buenos momentos que siempre recordare.

PEDRO IVÁN ALEAGA VILLACÍS

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I.....	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1. Introducción.....	3
1.2. Antecedentes investigativos	6
1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual	7
1.3.1 Métodos de propagación de papa.....	7
1.4. Generalidades	8
1.4.1. Composición nutricional de <i>Solanum tuberosum</i>	9
1.4.2. Características botánicas de la papa	9
1.5. Medio de cultivo y fitohormonas.....	11
1.6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	12
1.6.1. Hipótesis.....	12
1.6.2. Objetivos	12
CAPITULO II	13
METODOLOGÍA	13
2.1. Ubicación del experimento.....	13
2.2. Características del lugar	13
2.3. Equipos y materiales.....	13
2.3.1. Material experimental.....	13
2.3.2. Equipos	14
2.3.3. Materiales.....	14
2.4. Factores de estudio.....	15
2.4.1. Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.....	15
2.4.1.1. Factor 1. Efecto del tipo de auxina en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.	15

2.4.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes..	15
2.4.2.1. Factor 1. Efecto del tipo de citoquininas en la multiplicación de brotes.	15
2.4.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de las plantas multiplicadas.	16
2.4.3.1. Factor 1. Efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de las plantas multiplicadas.....	16
2.4.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.....	16
2.4.4.1. Factor 1. Influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.	16
2.5. Diseño experimental	16
2.6. Manejo del experimento.....	16
2.7. Tratamientos	28
2.7.1 Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.....	28
2.7.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes...	29
2.7.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de las plantas multiplicadas.....	30
2.7.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.....	31
2.8. Variables respuesta.....	31
2.8.1. Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.....	31
2.8.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes...	32
2.8.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de las plantas multiplicadas.	32
2.8.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.....	32
2.9. Procesamiento de la información	33
CAPÍTULO III.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales..	34
3.1.1. Efecto del tipo de auxina en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.	34
3.2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes.....	37

3.2.1. Efecto del tipo de citoquininas en la multiplicación de brotes	37
3.3.1. Efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento <i>in vitro</i> de las plantas multiplicadas.	41
3.4. Aclimatizar las plantas enraizadas.....	45
3.4.1. Influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.....	45
CAPITULO IV	49
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
4.1. CONCLUSIONES	49
4.2. RECOMENDACIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del cultivo de papa <i>Solanum tuberosum</i> L.....	8
Tabla 2. Contenido nutricional de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).....	9
Tabla 3. Características agronómicas papa Superchola	10
Tabla 4. Concentración de auxinas Ácido indol-3-acético (AIA), Ácido indol-3-butírico (AIB), Ácido 1-naftalenacético (ANA) y control.	28
Tabla 5. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para el establecimiento <i>in vitro</i>	28
Tabla 6. Concentración de citoquininas 6-benzilaminopurina (6-BAP), Kinetina (KIN), Isopentiladenina (2-iP).....	29
Tabla 7. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para la multiplicación <i>in vitro</i>	29
Tabla 8. Concentración de auxinas Ácido indol-3-acético (AIA), Ácido indol-3-butírico (AIB), Ácido 1-naftalenacético (ANA).	30
Tabla 9. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para el establecimiento <i>in vitro</i>	30
Tabla 10. Proporción de sustrato turba (Hawuita), tierra negra, arena.	31
Tabla 11. Influencia de las diferentes auxinas sobre el porcentaje de establecimiento <i>in vitro</i> , porcentaje de contaminación <i>in vitro</i> de plantas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de establecimiento a los 14 y 28 días de evaluadas.....	35
Tabla 12. Influencia de las diferentes auxinas sobre el porcentaje de oxidación, porcentaje de plantas con síntomas de hiperhidricidad de plantas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de establecimiento a los 14 y 28 días.....	36
Tabla 13. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de brotes por planta, altura de las plantas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días de evaluadas.....	39

Tabla 14. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de entrenudos por planta, longitud de entrenudos de plantas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días de evaluadas.....	39
Tabla 15. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de tallos por planta de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días.....	40
Tabla 16. Influencia de diferentes auxinas sobre el porcentaje de enraizamiento <i>in vitro</i>, longitud de raíces por planta de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 14 y 28 días.	43
Tabla 17. Influencia de diferentes auxinas sobre grosor del tallo, número de hojas por planta de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de enraizamiento a los 14 y 28 días.....	43
Tabla 18. Influencia de diferentes auxinas sobre el número de raíces por planta de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de enraizamiento a los 14 y 28 días.....	44
Tabla 19. Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el porcentaje de supervivencia, altura de plantas micropropagadas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de aclimatación a los 14 y 28 días.	46
Tabla 20. Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el número de hojas por planta, porcentaje de plantas que crecieron de vitroplantas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola en fase de aclimatación a los 14 y 28 días.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

2.6.1. Figura 1. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de las auxinas en el establecimiento de segmentos nodales de plantas <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> en el medio de cultivo MS.....	17
2.6.2. Figura 2. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de las citoquininas en la multiplicación de brotes en el medio de cultivo MS.....	20
2.6.3. Figura 3. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de auxinas en el enraizamiento de segmentos nodales de plantas <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> en el medio de cultivo MS.....	23
2.6.4. Figura 4. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.	26
Figura 5. Brotes establecidos <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia las diferentes auxinas; [Ácido indol-3-acético (AIA) (A), Ácido 1-naftalenacético (ANA) (B), Ácido indol-3-butírico (AIB) (C) y control sin auxinas (D)] a los 14 días y 28 días.....	36
Figura 6. Brotes multiplicados <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia las diferentes citoquininas; [6-benzilaminopurina (6-BAP) (A), Isopentiladenina (2-iP) (B), Kinetina (KIN) (C) y control sin citoquininas (D)] a los 14 días y 28 días.....	40
Figura 7. Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia las diferentes auxinas; [Ácido indol-3-acético (AIA) (A), Ácido 1-naftalenacético (ANA) (B), Ácido indol-3-butírico (AIB) (C) y control sin auxinas (D)] a los 14 días y 28 días.....	44
Figura 8. Plantas aclimatadas de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia de diferentes sustratos; [turba (100 %) (A), turba + tierra negra en proporciones de (2:1)	

(B), turba + arena en proporciones de (2:1) (C), Control tierra negra + arena en proporciones de (2:1) (D) a los 14 días y 28 días. 48

Figura 9. Diagrama del proceso que se realizó para la desinfección de los tubos de ensayo de vidrio. 57

Figura 10. Microtubérculos de *S. tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia de la citoquinina; Kinetina (C) después de dos meses. 58

RESUMEN

La presente investigación se desarrolló con la finalidad de determinar cómo influyen diferentes fitohormonas en la regeneración *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola vía organogénesis directa, entre los cuales se incluyeron concentración y tipo de regulador de crecimiento. En el establecimiento *in vitro* se analizó el tipo de auxinas y su concentración. En la fase de multiplicación *in vitro* se analizó la concentración y tipo de citoquininas. En la fase de enraizamiento *in vitro* se determinó el efecto del tipo de auxina y sus concentraciones. En la aclimatación de las plantas se analizó el tipo de sustrato. Se empleó un diseño completamente al azar en cada experimento. Los segmentos nodales de papa Var. Superchola se establecieron sin necesidad de adicionar auxinas (Control), sin embargo, las plantas presentaron un mayor porcentaje de oxidación. En la fase de multiplicación *in vitro* de segmentos nodales las concentraciones de 3 mg.L⁻¹ de 2iP, 1 mg.L⁻¹ de 6-BAP y 1,5 mg.L⁻¹ de KINETINA incrementaron el número de brotes, número y longitud de entrenudos, número de tallos y la altura de la planta. En la fase de enraizamiento *in vitro* las concentraciones de 0,5 mg.L⁻¹ de AIA, 0,5 mg.L⁻¹ de ANA y 0,2 mg.L⁻¹ de AIB incrementaron el porcentaje de enraizamiento, número y longitud de las raíces, grosor del tallo y número de hojas por planta. En la fase de aclimatación las plantas se adaptaron sin importar el tipo o dosificación de sustrato. Con los resultados del presente trabajo se logró obtener plantas aclimatadas de *Solanum tuberosum* L. de Variedad Superchola capaces de desarrollarse bajo condiciones de invernadero.

Palabras clave: Aclimatación, establecimiento, multiplicación, segmentos nodales.

ABSTRACT

The present investigation was developed with the purpose of determining how different phytohormones influence in vitro regeneration of *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola via direct organogenesis, among which were included concentration and type of growth regulator. In the in vitro establishment, the type of auxins and their concentration were analyzed. In the in vitro multiplication phase, the concentration and type of cytokinins were analyzed. In the in vitro rooting phase, the effect of auxin type and concentrations were determined. In the acclimatization of the plants, the type of substrate was analyzed. A completely randomized design was used in each experiment. Nodal segments of potato Var. Superchola were established without the addition of auxins (Control), however, the plants presented a higher percentage of oxidation. In the in vitro multiplication phase of nodal segments, concentrations of 3 mg.L⁻¹ of 2iP, 1 mg.L⁻¹ of 6-BAP and 1.5 mg.L⁻¹ of KINETIN increased the number of shoots, number and length of internodes, number of stems and plant height. In the in vitro rooting phase, concentrations of 0.5 mg.L⁻¹ of AIA, 0.5 mg.L⁻¹ of ANA and 0.2 mg.L⁻¹ of AIB increased the rooting percentage, number and length of roots, stem thickness and number of leaves per plant. In the acclimatization phase, the plants adapted regardless of the type or dosage of substrate. With the results of the present work it was possible to obtain acclimatized plants of *Solanum tuberosum* L. of the Superchola variety capable of developing under greenhouse conditions.

Key words: Acclimatization, establishment, multiplication, nodal segments.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Introducción

El cultivo de papa originario de América del Sur es altamente consumido en la dieta de las personas por su aporte de proteínas, vitaminas, sales minerales y calorías (**Rojas y Ortuño, 2007**). Siendo el tubérculo de la papa además un nutriente bajo en grasas con contenido de almidón y fibra (**Priedniece et al., 2017**). La papa (*Solanum tuberosum* L.) ocupa así el cuarto lugar a nivel mundial en la alimentación humana después del trigo, arroz, maíz ya que es un producto que se puede preparar en distintos platos de la dieta humana (**Onamu et al., 2012**).

La papa en el siglo XVI no era considerada como un alimento por los europeos debido a que la papa era desconocida, considerada como un tubérculo silvestre de poco valor, no obstante, por la demanda de nuevos alimentos y el crecimiento poblacional de forma exponencial en la época se produce la llamada resurgencia de la papa, siendo esta añadida a la dieta de los europeos teniendo una buena aceptación, por lo que en el siglo XX se posiciona como un producto de consumo mundial e industrializado (**Bonnett, 2019**).

El cultivo de papa en un estudio realizado en Ecuador por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos INEC en el 2012 tuvo una producción anual de 285 mil toneladas métricas con una superficie cosechada de 34,32 ha, con un rendimiento promedio de 8,30 Tm/ha (**INEC, 2012**). Sin embargo, para el 2019 el rendimiento nacional fue de 16,28 Tm/ha esto debido a que los grandes productores han semi tecnificado la producción de la papa llegando a producir hasta 34,09 Tm/ha (**Basantés et al., 2020**).

Las principales variedades de papa que demandan los productores a nivel nacional en Ecuador son las variedades; Superchola, INIAP-Fripapa, INIAP-Cecilia y Única por sus demandas en el mercado nacional, siendo producidas en las provincias de Carchi, Cotopaxi,

Tungurahua, Chimborazo y Cañar en una altitud entre los 1.500 msnm y 3.700 msnm (**Flores et al., 2012**). Pero las semillas utilizadas para la producción de papa en su mayoría son semillas producidas por los propios productores debido a que la semilla certificada solo abastece un 2% de la demanda (**Montesdeoca et al., 2012**).

La semilla convencional al no tener una calidad sanitaria puede transmitir algunos agentes fitopatógenos entre los cuales se destacan:

Rhizoctonia solani Kühn.

Sarna polvorienta causada por (*Spongospora subterraena* f.sp. subterránea - Sss)

Lancha causada por (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary)

Bacterias (*Pectobacterium* spp)

Insectos plaga:

Gusano blanco (*Premnotrypes vorax* Hustache)

Polillas (*Tecia solanivora* Povolny; *Symmetrischema tangolias* Gyen y *Phthorimaea operculella* Zeller)

(**Monar & Silva, 2018**).

En el cultivo de papa para tener altos rendimientos de producción genera un uso intensivo de fertilizantes aumentando el costo de producción y provocando problemas ambientales por la contaminación del suelo y el agua practica agronómica que se utiliza para la producción de semilla y tubérculos para el consumo humano (**Alvarado et al., 2015**).

Cultivo *in vitro*

El cultivo *in vitro* se define como el cultivo de órganos o tejidos vegetales que permiten la propagación clonal de manera rápida, incrementando el número de individuos libres de enfermedades y reduciendo su tiempo de propagación (**Indacochea et al., 2018**), para su desarrollo estos explantes deberán estar dentro de frascos de vidrio que contengan un medio

nutritivo que brinde lo necesario para su desarrollo, además de brindar condiciones controladas de temperatura y luz para su óptimo desarrollo (**Bagot, 2005**).

El cultivo *in vitro* de plantas al desarrollarse en pequeños contenedores con un medio de cultivo artificial que contenga; sacarosa, sales minerales, vitaminas y reguladores de crecimiento en concentraciones mayores al medioambiente natural durante su crecimiento pueden favorecer o limitar la presencia de bacterias (**Capó et al., 2004**). Además, que la biotecnología vegetal ha permitido desarrollar técnicas que permiten aumentar la tasa de multiplicación obteniendo un material vegetal libre de agentes patógenos y homogéneo (**Leiva 2006**).

La clonación de plantas mediante la organogénesis facilita la disponibilidad y transportación de plantas libres de enfermedades y uniformes durante todo el año mismas que se desarrollaran a nivel de invernadero luego de pasar por un periodo de aclimatación. (**Freire et al., 2011**). Además, que la biotecnología vegetal integrada al mejoramiento genético considera obtener en un menor tiempo nuevas variedades con resistencia o tolerancia a enfermedades como tizón temprano en el cultivo de papa. (**Veitía et al., 2008**).

Finalidad del proyecto

El proyecto tiene como finalidad determinar la influencia de diferentes fitohormonas en la regeneración *in vitro* de *S. tuberosum* vía organogénesis directa de cuerdo a sus fases de establecimiento, multiplicación, enraizamiento, aclimatación *ex vitro* de segmentos nodales de papa de la variedad Superchola utilizando el medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962) semisólido el cual permita a obtener plantas *in vitro* de papa como material de propagativo en el laboratorio biotecnología de la facultad de ciencias agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

1.2. Antecedentes investigativos

Nhut et al. (2006) a través de su artículo titulado “A novel *in vitro* hydroponic culture system for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber production” mencionaron que el cultivo *in vitro* tuvo beneficios como: altas tasas de multiplicación en un corto tiempo; asepsia del cultivo ya que las plantas al cultivarse en un medio *in vitro* se desarrollarán libres de hongos, bacterias, virus e insectos plagas; almacenamiento en pequeños espacios a diferencia del sistema convencional que requiere de un mayor espacio para su almacenamiento.

Yagiz et al. (2020) en su artículo titulado “Effects of growth regulators, media and explant types on microtuberization of potato.” señalaron la posibilidad de producir la primera generación de papa para la siembra a partir de la producción de microtubérculos (MT) *in vitro* con la adición de hormonas del crecimiento partiendo de un material vegetativo de plantas *in vitro*.

Alcantara et al. (2019) de acuerdo con su investigación titulada “Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal.” mencionaron que los reguladores de crecimiento como auxinas influyeron en algunos procesos bioquímicos como división y elongación celular, diferenciación celular, promoción división celular meristemática, aumento contenido osmótico celular, aumento de producción.

Singh (2015) mediante su investigación titulada “Effect of antiviral chemicals on *in vitro* regeneration response and production of PLRV-free plants of potato.” Determinó que a partir de segmentos nodales la respuesta de regeneración *in vitro* alcanzó un 90,97 % de los que se produjeron brotes que se convirtieron en plántas completas, los explantes utilizados para la regeneración contuvieron un solo nódulo el cual fue indicado para la propagación *in vitro* de papa en el medio MS adicionado con el ácido naftalenacético (ANA).

El Dessoky et al. (2016) en su trabajo de investigación titulado “*In vitro* Propagation of Potato under Different Hormonal Combinations” mencionó que los reguladores de crecimiento

como Kinetina, AG₃ influyeron la multiplicación *in vitro* de brotes de *S. tuberosum* a partir de segmento nodal en medio de cultivo MS.

1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1 Métodos de propagación de papa

La papa es una planta herbácea que llega alcanzar hasta 1 metro de altura con un ciclo corto donde puede generar semilla sexual viable, sin embargo, esta presenta una la variabilidad varietal no deseada para la propagación por lo que su producción a nivel nacional es mediante el uso de tubérculos, es decir de forma vegetativa o asexual (**Castro et al., 2012**).

En la biotecnología, la micropropagación es un conjunto de técnicas que permiten la clonación masiva de plántulas *in vitro* en condiciones asépticas, con factores ambientales controlados mediante el uso de medios de cultivo como MS y la adición de fitohormonas como: auxinas y citoquininas que estimulan, regulan o inhiben procesos fisiológicos en el desarrollo de las plantas micropropagadas (**López et al., 2019**).

Para la micropropagación de plantas *in vitro* es necesario obtener un material aséptico libre de problemas sanitarios el cual se puede conseguir de instituciones que micropropaguen el cultivo (**Ojeda et al., 2014**). Por otra parte, se pueden seleccionar plantas madre con buenas características que sirvan de plantas donantes mismas que se someterán a un proceso de desinfección con el propósito de establecer un material *in vitro* libre de enfermedades para su propagación en un menor tiempo y mejores características para la producción (**García et al., 2012**).

1.3.2 Condiciones *in vitro*

El cultivo *in vitro* de *S. tuberosum* para su desarrollo en el laboratorio se de hacerlo dentro de la cámara de crecimiento misma que brindara a los segmentos nodales las condiciones de humedad, luz, temperatura adecuados y un medio de cultivo adicionado con sacarosa y


fitohormonas para su crecimiento, teniendo para la papa una temperatura de 24 °C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad procedentes de tubos fluorescentes de color blanco frío con un flujo de fotones de 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Pino, 2013).

Fitohormonas

Una fitohormona es un compuesto producido internamente por las plantas, el cual interviene en desarrollo vegetal en bajas concentraciones, permitiendo controlar así su desarrollo, crecimiento y la actividad bioquímica de las plantas ya que los reguladores pueden controlar de manera específica el crecimiento vegetal, permitiendo optimizar las condiciones de crecimiento en función de lograr mejores resultados de acuerdo a los tiempos de aplicación de estos y sus concentraciones mismos que son utilizados para la producción *in vitro* por la biotecnología (Alcantara et al., 2019).

1.4. Generalidades

Tabla 1. Clasificación taxonómica del cultivo de papa *Solanum tuberosum* L.

TAXONOMÍA	
	Reino: Plantae División: Magnoliophyta Clase: Magnoliopsida Subclase: Asteridae Orden: Solanales Familia: Solanaceas Género: <i>Solanum</i> Especie: <i>tuberosum</i>
Papa Superchola (INIAP, s.f.).	

Existe un gran número de especies del cultivo de papa, pero para su producción a nivel comercial solo se emplean dos subespecies; *Solanum tuberosum* subsp. andigenum y *S. tuberosum* subsp. tuberosum (Castro et al., 2012).

1.4.1. Composición nutricional de *Solanum tuberosum*

Tabla 2. Contenido nutricional de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

CONTENIDO NUTRICIONAL POR 100 GRAMOS DE PAPA	
Energía	96 Kcal a 123 Kcal
Almidón	16 g a 20 g
Proteína	1.76 g a 2.95 g
Lípidos	0.1 g a 0,5 g
Fibra dietaría	1.8 g a 2.1 g
Potasio	150 mg a 1386 mg
Fósforo	42 mg a 120 mg
Magnesio	16 mg a 40 mg
Hierro	0.29 mg a 0.69 mg
Zinc	0,29 mg a 0.48 mg
Vitamina C	7,8 mg a 20.6 mg
Vitamina B6	0.299 mg
Ácido clorogénico	19 mg a 399 mg
Glicocaloides	0.7 mg a 18.7 mg

Fuente: (Gabriela y Stef de Hann, 2019)

1.4.2. Características botánicas de la papa

Hoja: Las hojas de la papa son compuestas, tienen de 7 a 9 folíolos su forma es lanceolada, en el tallo se disponen de forma espiralada, son bifaciales, sus dos epidermis se componen por células de paredes sinuosas, las hojas también presentan pelos o tricomas en su superficie (Leverato, 2015).

Tallo: La papa presenta tres tipos de tallos el uno se encuentra aéreo sobre el cual se disponen las hojas y dos subterráneos; los estolones y tubérculos (**Leverato, 2015**).

Raíz: La raíz de la papa puede penetrar el suelo hasta 0,8 m de profundidad, esta es de tipo ramificado, su sistema radical es fibroso, presenta un rápido crecimiento (**Leverato, 2015**).

Características morfológicas papa Superchola

La planta de la papa tiene un hábito de crecimiento erecto, tallos pigmentados, sus hojas son verdes con tres o cuatro pares de folíolos laterales y un folíolo terminal poseen también de dos o tres inter-hojuelas entre los folíolos, una flor morada con color secundario blanco y su corola estrellada, los tubérculos tienen una forma ovalada con ojos superficiales, predomina el color rosado y alrededor de sus ojos el color blanco crema como color secundario, con la pulpa de color amarillo intenso (**INIAP, 2016**).

Tabla 3. Características agronómicas papa Superchola

CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS	
Maduración	Tardía de 180 días a 210 días
Rendimiento	20 t / ha a 30 t / ha
Altitud del cultivo	2800 msnm a 3400 msnm
Enfermedades	Susceptible a lanchara (<i>Phytophthora infestans</i> Mont. de Bary)
	Medianamente resistente a roya (<i>Puccinia pittieriana</i> P. Hennings)
	Tolerante al nematodo del quiste (<i>Globodera pallida</i> Stone Behrens)
Contenido de materia seca	22 % a 24%
Periodo de dormancia	80 días

Fuente: (INIAP, 2016)

1.5. Medio de cultivo y fitohormonas

Murashige y Skoog (MS)

Murashige y Skoog es uno de los medios de cultivo más utilizado para la regeneración de especies vegetales *in vitro* ya que se ha desarrollado en sus inicios para satisfacer las necesidades de las especies vegetales como *Nicotiana tabacum* L. en 1962, en las especies leñosas no tiene el mismo efecto (Assis et al., 2012). El medio MS ha sido utilizado para la mayoría de las especies vegetales ya que reúne los requerimientos necesarios acorde con lo mencionado por Rodríguez et al. (2004).

Descripción de las fitohormonas

Auxinas

Las auxinas intervienen en el proceso de división celular, elongación, diferenciación celular a su vez pueden inducir la diferenciación celular y originar órganos vegetales como la raíz, tallo, hoja. También la formación y elongación de tallos, producción de raíces adventicias en tejidos vegetales recién cortados. El ácido 3-indolacético (AIA), ácido indol-butírico (AIB), el ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D) y el ácido α -naftalenacético (ANA) (Alcantara et al., 2019), están dentro de las auxinas que mayor uso tienen en la biotecnología vegetal.

Citoquininas

Las citoquininas en pequeñas cantidades tienen la capacidad iniciar la proliferación, división celular induciendo la iniciación de raíces y su elongación; senescencia de la hoja; aumento de brotes y generación de brotes. La fitohormona se deriva de la adenina pudiendo encontrar la Zeatina derivado del endospermo inmaduro del maíz (Alcantara et al., 2019). Las citoquininas 6-Bencilaminopurina (6-BAP), Thidiazurón (TDZ), Kinetina (KIN) y 2-Isopentil adenina (2iP) también influyen en la producción de brotes acorde con lo obtenido por Sukarnih et al. (2021).

1.6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.6.1. Hipótesis

- H0.- Mediante el uso de la organogénesis directa no se pueden regenerar plantas de *S. tuberosum* en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- H1.- Mediante el uso de la organogénesis directa se pueden regenerar plantas de *S. tuberosum* en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

1.6.2. Objetivos

Objetivo General:

Regenerar plantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola mediante organogénesis directa en el laboratorio de biotecnología de la facultad de ciencias agropecuarias.

Objetivos Específicos:

1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.
2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes.
3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.
4. Aclimatizar las plantas enraizadas.

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

El trabajo investigativo se desarrolló en el laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el campus Querochaca ubicado en el cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua.

2.2. Características del lugar

Para determinar la influencia de las fitohormonas en las fases de establecimiento, multiplicación, enraizamiento, multiplicación de *S. tuberosum* Var. Superchola se realizó en el laboratorio de biotecnología vegetal en cual se encuentra ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el cantón Cevallos. A una altitud sobre el nivel del mar de 2865 msnm, con las coordenadas geográficas 01° 22' 0,2" de latitud Sur y 78° 36' 22" de longitud Oeste (sistema de posicionamiento global, GPS) (Jiménez et al., 2018).

2.3. Equipos y materiales

2.3.1. Material experimental

El material experimental que se usó para el trabajo de investigación consistió en segmentos nodales de plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum* Var. Superchola del laboratorio de biotecnología vegetal de la FCAGP-UTA las mismas que se mantuvieron en la zona se transferencia en el medio de cultivo MS.

2.3.2. Equipos

- Autoclave. (modelo M11-03).
- pH-metro 900. BANTE instrument (modelo 20110407109).
- Balanza Analítica. ADAM (modelo PGW 153e).
- Cabina de flujo laminar. Thermo scientific. (modelo 1375).
- Destilador de agua (9000-D).
- Microondas Panasonic (NN-7602).
- Cámara de crecimiento (Trasferencia).

2.3.3. Materiales

Para determinar la influencia de las fitohormonas en la regeneración *in vitro* de *S. tuberosum* se utilizaron los siguientes materiales:

- Plantas de *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola en fase de establecimiento.



- Medio de cultivo MS (Phyto Tech).
- Auxinas:
 - Ácido indol-3-acético (AIA).
 - Ácido indol-3-butírico (AIB).
 - Ácido 1-naftalenacético (ANA).
- Citoquininas:
 - 6-benzilaminopurina (6-BAP).
 - Kinetina (KIN).

Isopentiladenina (2-iP).

- Agar.
- Sacarosa.
- Tubos de ensayo de vidrio de 18 mm x 150 mm.
- Beaker (vasos de precipitación) de 500 ml.
- Pipetas de 1 ml.
- Probetas de 100 ml
- Matraz Enlermeyer de 1000 ml.
- Hipoclorito de sodio al 5 % (p/v).
- Alcohol 70 % (v/v).
- Mechero Bunsen.
- Pinza de acero inoxidable de 25 cm.
- Placa metálica de 25 cm x 25cm
- Bisturí #23.
- Gradillas para tubos de 18 mm x 150mm.
- Ligas de caucho.
- Sustrato (Turba).

2.4. Factores de estudio

2.4.1. Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

2.4.1.1. Factor 1. Efecto del tipo de auxina en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

2.4.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes.

2.4.2.1. Factor 1. Efecto del tipo de citoquininas en la multiplicación de brotes.

2.4.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

2.4.3.1. Factor 1. Efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

2.4.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.

2.4.4.1. Factor 1. Influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.

2.5. Diseño experimental

Para cada factor en estudio se utilizó un diseño completamente aleatorizado.

2.6. Manejo del experimento

1. Para el establecimiento de segmentos nodales de plantas *in vitro* de *S. tuberosum* en el medio de cultivo MS suplementado con diferentes auxinas se siguió el proceso del **Figura 1** donde se describe el procedimiento que se realizó fuera y dentro de la cabina de flujo laminar.

2. Para la multiplicación de brotes en el medio de cultivo MS suplementado con diferentes citoquininas se siguió el proceso del **Figura 2** donde se describe el procedimiento que se realizó fuera y dentro de la cabina de flujo laminar.

3. Para el enraizamiento de plantas multiplicadas en el medio de cultivo MS suplementado con diferentes auxinas se siguió el proceso del **Figura 3** donde se describe el procedimiento que se realizó fuera y dentro de la cabina de flujo laminar.

4. Para la aclimatación de plantas micropropagadas en diferentes sustratos se siguió el proceso del **Figura 4** donde se describe el procedimiento que se realizó para su aclimatación *ex vitro*.

2.6.1. Figura 1. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de las auxinas en el establecimiento de segmentos nodales de plantas *in vitro* de *S. tuberosum* en el medio de cultivo MS.

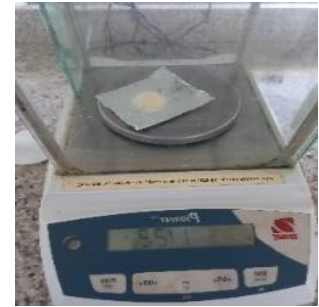
**PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO MS
CON LA ADICIÓN DE AUXINAS PARA EL
ESTABLECIMIENTO *IN VITRO*.**



En un matraz Erlenmeyer de 250 ml colocar la mitad del agua destilada del total de ml a preparar por tratamiento.

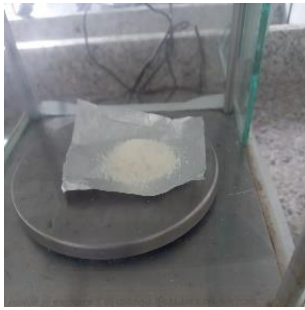


Pesar el medio de cultivo MS a una concentración de 4.43 g/L y disolver en el agua destilada.

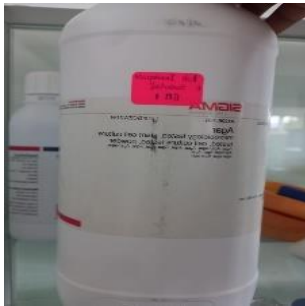
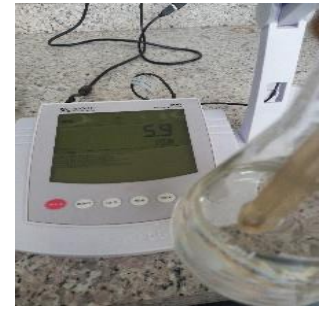


Adicionar las diferentes auxinas (AIA, ANA, AIB) en el medio de cultivo MS de acuerdo con cada tratamiento. Para el tratamiento de control no se agregará auxinas.

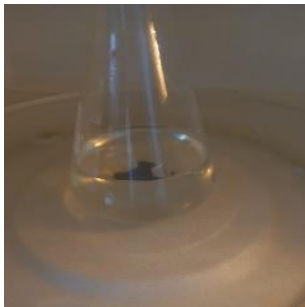




Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS y aforar con la otra mitad de agua destilada y medir y corregir el pH a 5.9 ya que al autoclavar el medio de cultivo este varía en $5,7 \pm 2$.



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



Dispensar 10 ml de la solución en los tubos de ensayo de vidrio y colocar una tapa de aluminio para luego ajustar con una liga.



Colocar los tubos de ensayo en gradillas y llevar a la autoclave para esterilizar el medio para luego llevar a la cabina de flujo laminar.



Autoclavar una bata, cofia, pinza de acero inoxidable, agua destilada, frasco de vidrio, cuadritos de papel de aluminio, placa metálica de 25 cm².





Desinfectar la cabina de flujo laminar con alcohol al 70 % y colocar los materiales autolavados junto a dos mecheros de alcohol y encender la luz UV por 30 min antes de ingresar las platas *in vitro* para la siembra.



Lavarse las manos con agua y jabón luego colocarse una la cofia y bata para ingresar al aérea de inoculación.



En la cabina de flujo laminar proceder a segmentar las platas *in vitro* en segmentos nodales con una yema y con la ayuda de una pinza colocamos en los tubos de ensayo de forma vertical.



Colocar una tapa nueva de papel de aluminio y ajustar con la liga, por último, llevar a zona de transferencia donde se desarrollarán con una temperatura de 24° C y 16 horas luz procedentes de tubos fluorescentes de color blanco frío con un flujo de fotones de 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

2.6.2. **Figura 2.** Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de las citoquininas en la multiplicación de brotes en el medio de cultivo MS.

PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO MS CON LA ADICIÓN DE CITOQUININAS PARA LA MULTIPLICACION *IN VITRO*



En un matraz Erlenmeyer de 250 ml colocar la mitad del agua destilada del total de ml a preparar por tratamiento.



Pesar el medio de cultivo MS a una concentración de 4.43 g/L y disolver en el agua destilada.

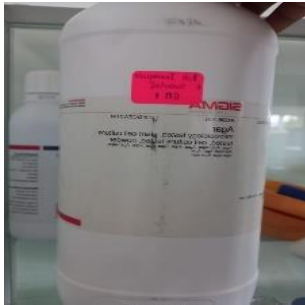
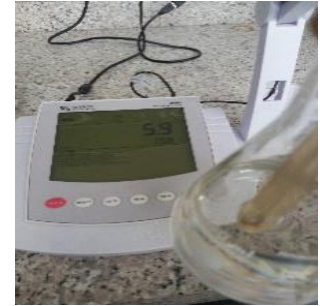


Adicionar las diferentes auxinas (6-BAP, 2-iP, Kinetina) en el medio de cultivo MS de acuerdo con cada tratamiento. Para el tratamiento de control no se agregará citoquininas.





Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS y aforar con la otra mitad de agua destilada y medir y corregir el pH a 5.9 ya que al autoclavar el medio de cultivo este varía en $5,7 \pm 2$.



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



Dispensar 10 ml de la solución en los tubos de ensayo de vidrio y colocar una tapa de aluminio para luego ajustar con una liga.

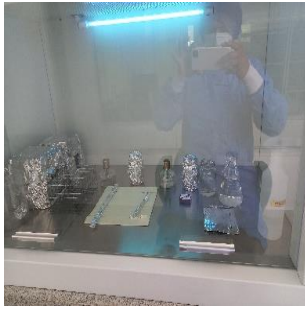


Colocar los tubos de ensayo en gradillas y llevar a la autoclave para esterilizar el medio para luego llevar a la cabina de flujo laminar.



Autoclavar una bata, cofia, pinza de acero inoxidable, agua destilada, frasco de vidrio, cuadritos de papel de aluminio, placa metálica de 25 cm².





Desinfectar la cabina de flujo laminar con alcohol al 70 % y colocar los materiales autolavados junto a dos mecheros de alcohol y encender la luz UV por 30 min antes de ingresar las platas *in vitro* para la siembra.



Lavarse las manos con agua y jabón luego colocarse una la cofia y bata para ingresar al aérea de inoculación.



En la cabina de flujo laminar proceder a segmentar las platas *in vitro* en segmentos nodales con una yema y con la ayuda de una pinza colocamos en los tubos de ensayo de forma vertical.



Colocar una tapa nueva de papel de aluminio y ajustar con la liga, por último, llevar a zona de transferencia donde se desarrollarán con una temperatura de 24° C y 16 horas luz procedentes de tubos fluorescentes de color blanco frío con un flujo de fotones de $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

2.6.3. Figura 3. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia de auxinas en el enraizamiento de segmentos nodales de plantas *in vitro* de *S. tuberosum* en el medio de cultivo MS.

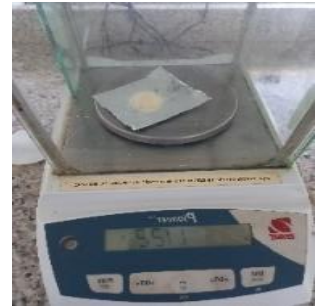
PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO MS CON LA ADICIÓN DE AUXINAS PARA EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO*.



En un matraz Erlenmeyer de 250 ml colocar la mitad del agua destilada del total de ml a preparar por tratamiento.



Pesar el medio de cultivo MS a una concentración de 4.43 g/L y disolver en el agua destilada.

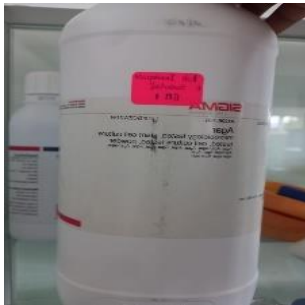
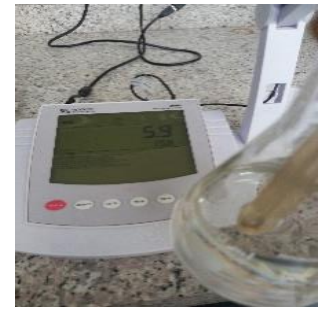


Adicionar las diferentes auxinas (AIA, ANA, AIB) en el medio de cultivo MS de acuerdo con cada tratamiento. Para el tratamiento de control no se agregará auxinas.

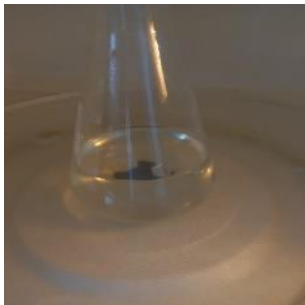




Pesar 30 g/L de sacarosa y disolver en el medio de cultivo MS y aforar con la otra mitad de agua destilada y medir y corregir el pH a 5.9 ya que al autoclavar el medio de cultivo este varía en $5,7 \pm 2$.



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



Dispensar 10 ml de la solución en los tubos de ensayo de vidrio y colocar una tapa de aluminio para luego ajustar con una liga.

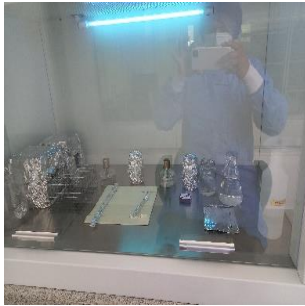


Colocar los tubos de ensayo en gradillas y llevar a la autoclave para esterilizar el medio para luego llevar a la cabina de flujo laminar.



Autoclavar una bata, cofia, pinza de acero inoxidable, agua destilada, frasco de vidrio, cuadritos de papel de aluminio, placa metálica de 25 cm².





Desinfectar la cabina de flujo laminar con alcohol al 70 % y colocar los materiales autolavados junto a dos mecheros de alcohol y encender la luz UV por 30 min antes de ingresar las platas *in vitro* para la siembra.



Lavarse las manos con agua y jabón luego colocarse una cofia y bata para ingresar al área de inoculación.



En la cabina de flujo laminar proceder a segmentar las platas *in vitro* en segmentos nodales con una yema y con la ayuda de una pinza colocamos en los tubos de ensayo de forma vertical.



Colocar una tapa nueva de papel de aluminio y ajustar con la liga, por último, llevar a zona de transferencia donde se desarrollarán con una temperatura de 24° C y 16 horas luz procedentes de tubos fluorescentes de color blanco frío con un flujo de fotones de 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

2.6.4. Figura 4. Diagrama del proceso que se realizó para determinar la influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.

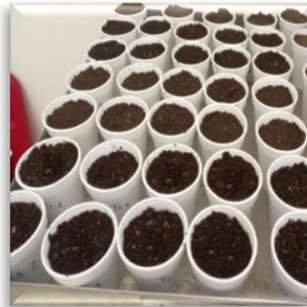
**PREPARACIÓN DE SUSTRATO PARA
ACLIMATACIÓN DE PLANTAS *EX VITRO***



En una bandeja tamizar con un tamiz de 2 mm la arena y la tierra negra para luego mezclar de acuerdo con el mejor tratamiento del experimento tres.



Para el primer tratamiento colocar turba al 100 % en vasos de 12 onzas para el segundo mezclar 2 porciones de turba y 1 de arena (2:1) para el tercer tratamiento mezclar 2 porciones de turba y 1 de tierra negra (2:1) para el control mezclar 1 porción de arena y 1 de tierra negra (1:1) apisonamos y volvemos a completar el faltante.

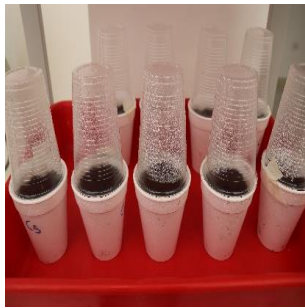


Cortar segmentos de plantas *in vitro* del mejor tratamiento de enraizamiento y colocar en agua destilada.





Con la ayuda de una pinza colocar un segmento en cada uno de los vasos con su respectivo sustrato previamente humedecido.



Finalmente colocar un vaso transparente plástico como cubierta y dejar los tratamientos en el área de aclimatación del laboratorio de biotecnología vegetal FCAGP-UTA.



Elaborado por: Pedro Aleaga

2.7. Tratamientos

2.7.1. Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

Factor 1. Efecto del tipo de auxina en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

T1.- AIA (0,25 mg.L⁻¹). acorde con lo mencionado por (López et al., 2019).

T2.- ANA (0,025 mg.L⁻¹). acorde con lo sugerido por (Gómez et al., 2017).

T3.- AIB (0,05 mg.L⁻¹). acorde con lo obtenido por (Gómez et al., 2017).

Control sin auxinas.

Tabla 4. Concentración de auxinas Ácido indol-3-acético (AIA), Ácido indol-3-butírico (AIB), Ácido 1-naftalenacético (ANA) y control.

CONCENTRACIÓN DE AUXINAS	
Ácido indol-3-acético (AIA).	0,25 mg.L ⁻¹
Ácido 1-naftalenacético (ANA).	0,025 mg.L ⁻¹
Ácido indol-3-butírico (AIB).	0,05 mg.L ⁻¹
CONTROL	SIN AUXINAS

Elaborado por: Pedro Aleaga

Tabla 5. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para el establecimiento *in vitro*.

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

Elaborado por: Pedro Aleaga

2.7.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes.

Factor 2.- Efecto del tipo de citoquininas en la multiplicación de brotes.

T1.- 6-BAP (3,0 mg.L⁻¹). acorde con lo mencionado por (Criollo et al., 2016).

T2.- 2-iP (1 mg.L⁻¹). acorde con lo referido por (Adhikari et al., 2016).

T3.- Kinetina (1,5 mg.L⁻¹). acorde con lo obtenido por (Castañeda et al., 2009).

Control sin citoquininas.

Tabla 6. Concentración de citoquininas 6-benzilaminopurina (6-BAP), Kinetina (KIN), Isopentiladenina (2-iP).

CONCENTRACIÓN DE AUXINAS	
6-benzilaminopurina (6-BAP).	(3 mg.L ⁻¹).
Isopentiladenina (2-iP).	(1 mg.L ⁻¹).
Kinetina (KIN).	(1,5 mg.L ⁻¹).
CONTROL	SIN CITOQUININAS

Elaborado por: Pedro Aleaga

Tabla 7. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para la multiplicación *in vitro*.

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

Elaborado por: Pedro Aleaga

2.7.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

Factor 3.- Efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

T1.- AIA (0,5 mg.L⁻¹). acorde con lo sugerido por (Criollo et al., 2016).

T2.- ANA (0,5 mg.L⁻¹). acorde con lo referido por (Barrera et al., 2017).

T3.- AIB (0,2 mg.L⁻¹). acorde con lo mencionado por (Cárdenas et al., 2016).

Control sin auxinas.

Tabla 8. Concentración de auxinas Ácido indol-3-acético (AIA), Ácido indol-3-butírico (AIB), Ácido 1-naftalenacético (ANA).

CONCENTRACIÓN DE AUXINAS	
Ácido indol-3-acético (AIA).	(0,5 mg.L ⁻¹).
Ácido 1-naftalenacético (ANA).	(0,5 mg.L ⁻¹).
Ácido indol-3-butírico (AIB).	(0,2 mg.L ⁻¹).
CONTROL	SIN AUXINAS

Elaborado por: Pedro Aleaga

Tabla 9. Concentración del medio de cultivo MS, Agar, Sacarosa y pH para el establecimiento *in vitro*.

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

Elaborado por: Pedro Aleaga

2.7.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.

Factor 4.- Influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.

T1.- Plantas con turba (Hawuita) con vaso colocado en la parte superior, acorde con lo obtenido por (Rigato et al., 2001).

T2.- Plantas con turba (Hawuita) + tierra negra en proporciones de (2:1) con vaso colocado en la parte superior. acorde con lo referido por (Rigato et al., 2001).

T3.- Plantas con turba (Hawuita) + arena en proporciones de (2:1) con vaso colocado en la parte superior. acorde con lo mencionado por (Rigato et al., 2001).

Control: Plantas con tierra negra + arena en proporciones de (2:1) con vaso colocado en la parte superior.

Tabla 10. Proporción de sustrato turba (Hawuita), tierra negra, arena.

PROPORCIONES DE SUSTRATO	
Turba (Hawuita)	100%
Turba (Hawuita) + tierra negra	(2:1)
Turba (Hawuita) + arena	(2:1)
CONTROL: tierra negra + arena	(2:1)

Elaborado por: Pedro Aleaga

2.8. Variables respuesta

2.8.1. Objetivo 1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

- Porcentaje de establecimiento *in vitro* en 14 días.
- Porcentaje de contaminación *in vitro* en 14 días.

- Porcentaje de oxidación *in vitro*.
- Porcentaje de plantas con síntomas de hiperhidricidad.

2.8.2. Objetivo 2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes.

- Número de brotes por tubo de ensayo de vidrio.
- Altura de la planta (cm).
- Número de entrenudos por planta.
- Longitud promedio de los entrenudos (cm).
- Número final de segmentos nodales con una yema axilar.
- Número de tallos principales.

2.8.3. Objetivo 3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

- Porcentaje de plantas con raíces.
- Longitud de las raíces (cm).
- Número de raíces por planta.
- Grosor del tallo en centímetros (cm).
- Número de hojas por planta enraizada
- Color de la raíz.

2.8.4. Objetivo 4. Aclimatizar las plantas enraizadas.

- Porcentaje de supervivencia.
- Altura de la planta (cm).
- Número de hojas por planta.
- Porcentaje de plantas viables.

2.9. Procesamiento de la información

Los datos de las evaluaciones de cada experimento fueron registrados en cuaderno y en Excel. Estos fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. 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 las variables cuyos datos no cumplieron los requerimientos de normalidad u homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con la prueba U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evaluar el efecto de auxinas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

3.1.1. Efecto del tipo de auxina en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

Al evaluar el efecto del tipo de auxinas en la fase de establecimiento se pudo observar que entre los tratamientos existieron diferencias estadísticas en el porcentaje de establecimiento *in vitro*, porcentaje de contaminación *in vitro* a partir de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. de la variedad Superchola en el medio de cultivo MS los 14 días y 28 días. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para el porcentaje de oxidación del explante y presencia de plantas con hiperhidricidad a los 14 días y 28 días (**Tabla 11**) y (**Tabla 12**).

Al analizar el factor de establecimiento *in vitro* en el porcentaje de establecimiento con la influencia de las auxinas a los 14 y 28 días se pudo observar que los tratamientos de AIB con $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ y control llegaron al 100 % de plántulas establecidas mientras que con ANA y AIA llegaron a un 80 % y 90 % respectivamente. Y para el porcentaje de contaminación todos presentaron 0 % de contaminación a excepción del control que tuvo un 26% de contaminación *in vitro* en el medio de cultivo MS (**Tabla 11**).

Al analizar el factor de establecimiento *in vitro* con la influencia de las auxinas AIA con una concentración de $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$, ANA con $0,025 \text{ mg.L}^{-1}$, AIB con $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ y control sin auxinas a los 14 y 28 días no se observó oxidación ni hiperhidricidad en las plántulas de papa. Además, que las plantas se desarrollaron por completo a los 28 días (**Tabla 12**).

Según **López et al. (2019)** en su investigación para el establecimiento de *Solanum tuberosum* con el efecto sinérgico del ácido giberélico y el ácido indolacético mencionaron que a la concentración de 0,5 mg.L⁻¹ AG3 y 0.1 mg.L⁻¹ AIA tuvo un mejor efecto sinérgico en la propagación *in vitro* de papa, asimismo con la concentración de 0,25 mg.L⁻¹ de AIA se alcanzaron resultados similares.

Por otra parte, **Gómez et al. (2017)** refirieron que las bajas concentraciones de auxinas promueven la generación de brotes por lo que 0,025 mg.L⁻¹ de ANA produjeron un 40 % de explantes con respuesta organogénica produciendo un promedio de 3,1 brotes por explante sembrado en el medio de cultivo MS adicionado con sacarosa, agar y fitohormonas. Las concentraciones de 0,02 mg.L⁻¹ de AIB produjeron brotes y la formación de raíces. **Abdelnour et al. (2011)** afirmaron que la auxina AIB promueve el desarrollo de raíces aun cuando se utilice en bajas concentraciones para producir plántulas de papa.

Tabla 11. Influencia de las diferentes auxinas sobre el porcentaje de establecimiento *in vitro*, porcentaje de contaminación *in vitro* de plantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de establecimiento a los 14 y 28 días de evaluadas.

TRATAMIENTOS	Establecimiento <i>in vitro</i> (%)				Contaminación <i>in vitro</i> (%)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- AIA (0,25 mg.L ⁻¹)	93	8,00 d	93	30,50	0,00	30,50	0,00	30,50
T2- ANA (0,025 mg.L ⁻¹)	80	23,00 c	80	30,50	0,00	26,50	0,00	26,50
T3- AIB (0,05 mg.L ⁻¹)	100	38,00 b	100	30,50	0,00	32,50	0,00	32,50
CONTROL	100	53,00 a	100	30,50	26,67	32,50	26,67	32,50

Nota: \bar{x} → media aritmética
 RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 12. Influencia de las diferentes auxinas sobre el porcentaje de oxidación, porcentaje de plantas con síntomas de hiperhidricidad de plantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de establecimiento a los 14 y 28 días.

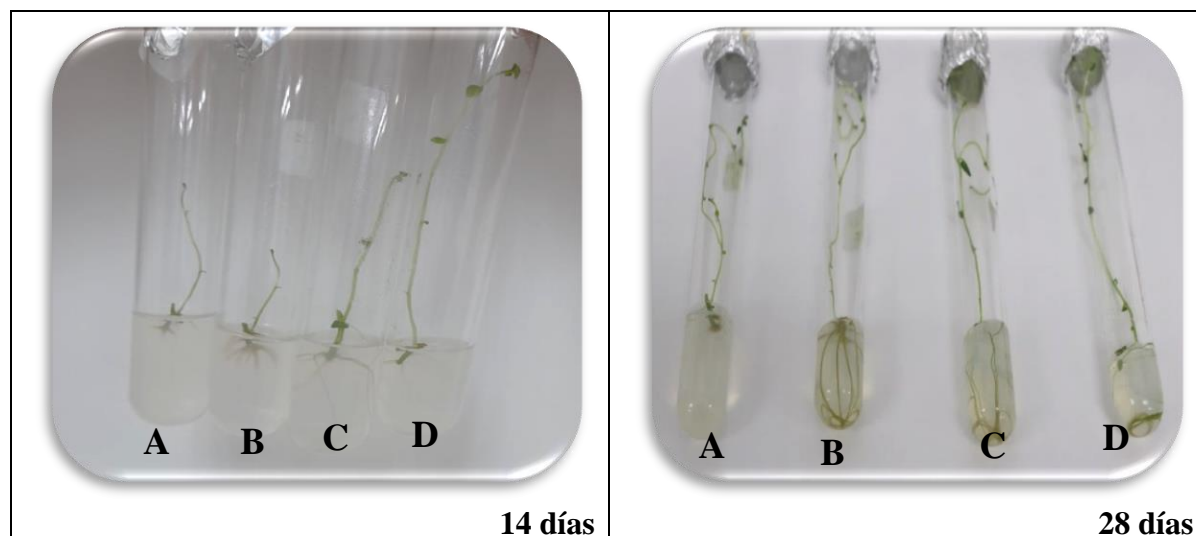
TRATAMIENTOS	Oxidación (%)				Plantas con síntomas de hiperhidricidad (%)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- AIA (0,25 mg.L ⁻¹)	0	28,50 b	0	29,00 b	0	30,50	0	30,50
T2- ANA (0,025 mg.L ⁻¹)	0	28,50 b	0	29,00 b	0	30,50	0	30,50
T3- AIB (0,05 mg.L ⁻¹)	0	28,50 b	0	29,00 b	0	30,50	0	30,50
CONTROL	0	36,50 a	0	35,00 a	0	30,50	0	30,50

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP → Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

Figura 5. Brotes establecidos *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia las

diferentes auxinas; [Ácido indol-3-acético (AIA) (A), Ácido 1-naftalenacético (ANA) (B), Ácido indol-3-butírico (AIB) (C) y control sin auxinas (D)] a los 14 días y 28 días.

3.2. Evaluar el efecto de citoquininas en la multiplicación de brotes

3.2.1. Efecto del tipo de citoquininas en la multiplicación de brotes

Al evaluar el efecto de las citoquininas en la fase de multiplicación, se pudo observar que entre los tratamientos existieron diferencias estadísticas significativas para el número de brotes por planta, altura de la planta (cm), número de entrenudos, longitud de entrenudos y número de tallos por planta a partir de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. de la variedad Superchola en el medio de cultivo MS a los 14 días y 28 días (**Tabla 13**), (**Tabla 14**) y (**Tabla 15**).

Al analizar el factor de multiplicación *in vitro* para el número de brotes por tubo de ensayo con la influencia de las citoquininas a los 14 y 28 días se pudo observar que el tratamiento 2iP con 3 mg.L⁻¹ produjo un mayor número de brotes obteniendo un promedio de 3,3 brotes, respecto al control que obtuvo un promedio de 0,93 brotes. Por otra parte, la altura promedio por planta a los 28 días el control alcanzó el mayor promedio con 5,51 cm por planta seguido por la citoquinina 2iP con 3 mg.L⁻¹ alcanzó 3,31 cm de altura, al usar 6-BAP con 1 mg.L⁻¹ la altura fue de 3,25 cm mientras que con kinetina con 1,5 mg.L⁻¹ llegó a una altura de 2,96 cm en el medio de cultivo MS (**Tabla 13**).

Al analizar el factor de multiplicación *in vitro* con la influencia de las citoquininas a los 28 días se obtuvo un promedio de 3,6 entrenudos por planta con la concentración 3 mg.L⁻¹ de 2iP, así como 2,9 entrenudos por planta con 1 mg.L⁻¹ de 6-BAP, 3 entrenudos por planta con 1,5 mg.L⁻¹ de kinetina y finalmente el control con 4,3 entrenudos por planta. De igual manera la longitud promedio entre entrenudos a los 28 días varió en cada tratamiento ya que con 2iP a la concentración de 3 mg.L⁻¹ alcanzó una longitud promedio de 0,83 cm al usar 6-BAP con 1 mg.L⁻¹ la longitud promedio fue de 1,5 cm mientras que con 1,5 mg.L⁻¹ de kinetina se obtuvo una

longitud promedio de 1,05 cm mientras el control llegó a una longitud promedio de 1,3 cm en el medio de cultivo MS (**Tabla 14**).

Al analizar el factor de multiplicación *in vitro* el número de tallos por planta con la influencia de las citoquininas a los 28 días obtuvo 2iP con la concentración de 3 mg.L⁻¹ el mayor promedio de números de tallos con 2,6 tallos por planta, seguido por 6-BAP con la concentración de 1 mg.L⁻¹ alcanzando 2,2 tallos por planta, kinetina con la concentración de 1,5 mg.L⁻¹ obtuvo 1,47 tallos por planta y el control obtuvo el promedio menor de números de tallos con 0,93 tallos por planta en el medio de cultivo MS (**Tabla 15**).

Criollo et al. (2016) afirmaron que al utilizar 3 mg.L⁻¹ de 6-BAP se indujo una mayor formación de brotes ya que llegó a producir 11,4 brotes a diferencia del uso de 1,5 mg.L⁻¹ que produjo 9,7 brotes por lo cual concluyeron que el 6-BAP es una citoquinina que produce la multiplicación de brotes *in vitro* de *S. tuberosum* en el medio de cultivo MS.

Adhikari et al. (2016) refirieron que en el medio de cultivo MS con la adición de 1 mg.L⁻¹ de 2iP y 2 mg.L⁻¹ de AIA mostraron un mayor porcentaje de regeneración de brotes con un 29 % a diferencia de dosis de 0,25 mg.L⁻¹ de ZR y 2 mg.L⁻¹ de AIA que alcanzaron un menor porcentaje de regeneración con un 12 %.

Según **Castañeda et al. (2009)** refirieron que la citoquinina kinetina en dosis elevadas de 1 mg.L⁻¹ a 10 mg.L⁻¹ indujo la formación de brotes adventicios además de inhibir la formación de raíces, retardó el envejecimiento de las plantas *in vitro* teniendo una mayor producción de brotes con una dosis de 1.5 mg.L⁻¹ de KIN. Pudiéndose observar en la investigación que no se produjo la formación de raíces en ninguno de los ensayos que utilizaron citoquininas a diferencia del control que sí formó raíces por lo que se concluyó que las citoquininas utilizadas inhibieron la formación de raíces.

Tabla 13. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de brotes por planta, altura de las plantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días de evaluadas.

TRATAMIENTOS	Número de brotes por planta (#)				Altura de la planta (cm)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- 2iP (3 mg.L ⁻¹)	1,80	41,70 a	3,20	45,80 a	2,47	33,13	3,31	28,23 b
T2- 6-BAP (1 mg.L ⁻¹)	1,60	35,90 ab	2,20	31,60 b	1,98	24,63	3,25	27,00 b
KINETINA (1.5 mg.L ⁻¹)	1,27	27,03 bc	2,33	33,27 b	2,03	26,63	2,96	23,43 b
CONTROL	0,93	17,37 c	0,93	11,33 c	2,75	37,60	5,51	43,33 a

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 14. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de entrenudos por planta, longitud de entrenudos de plantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días de evaluadas.

TRATAMIENTOS	Número de entrenudos por planta (#)				Longitud de entrenudos (cm)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- 2iP (3 mg.L ⁻¹)	2,33	34,10	3,6	32,93 b	0,83	27,73 b	0,83	19,57 c
T2- 6-BAP (1 mg.L ⁻¹)	1,87	26,07	2,9	22,13 b	1,03	42,10 a	1,50	45,83 d
KINETINA (1.5 mg.L ⁻¹)	1,87	25,17	3,0	23,63 b	0,45	10,03 c	1,05	17,40 a
CONTROL	2,40	36,67	4,3	43,30 a	1,01	42,13 a	1,30	39,20 b

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 15. Influencia de diferentes citoquininas sobre número de tallos por planta de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de multiplicación a los 14 y 28 días.

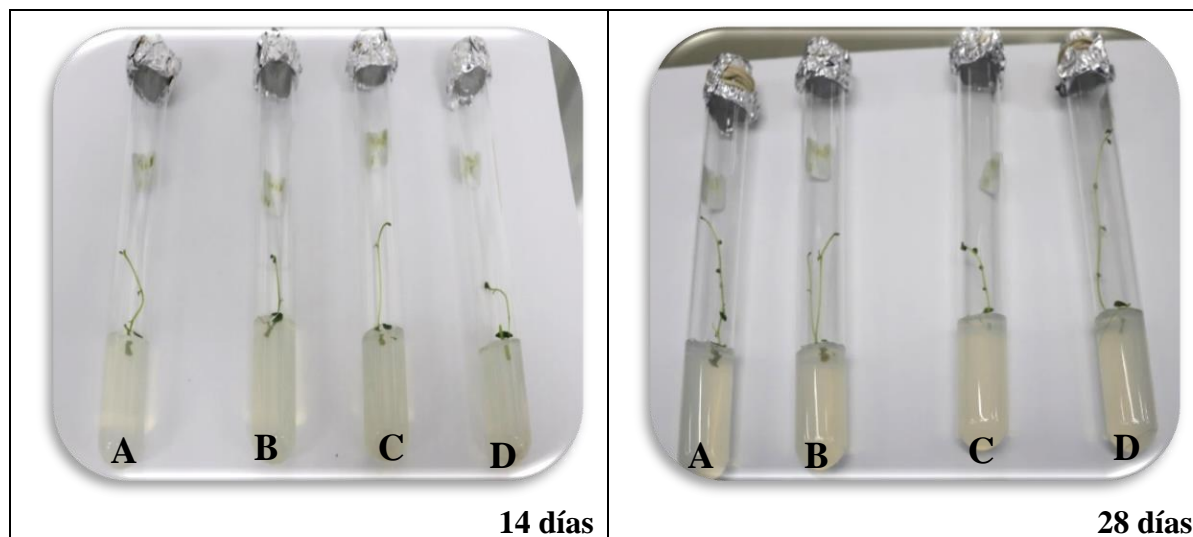
TRATAMIENTOS	Número de tallos (#)			
	14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- 2iP (3 mg.L ⁻¹)	1,80	41,80 a	2,60	45,60 a
T2- 6-BAP (1 mg.L ⁻¹)	1,53	34,97 ab	2,20	38,80 a
KINETINA (1.5 mg.L ⁻¹)	1,27	27,37 bc	1,47	24,40 b
CONTROL	0,93	17,87 c	0,93	13,20 c

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP → Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

Figura 6. Brotes multiplicados *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia

las diferentes citoquininas; [6-benzilaminopurina (6-BAP) (A), Isopentiladenina (2-iP) (B), Kinetina (KIN) (C) y control sin citoquininas (D)] a los 14 días y 28 días.

3.3. Determinar el efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

3.3.1. Efecto de diferentes auxinas y sus concentraciones sobre el enraizamiento *in vitro* de las plantas multiplicadas.

Al evaluar el efecto del tipo de auxinas en el enraizamiento se observó que los tratamientos entre sí tuvieron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de enraizamiento, longitud de raíces (cm), grosor del tallo (mm), número de hojas por planta, número de raíces por planta a partir de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. de la variedad Superchola en el medio de cultivo MS a los 14 y 28 días (**Tabla 16**) (**Tabla 17**) y (**Tabla 18**).

Respecto al porcentaje de enraizamiento con la influencia de las auxinas a los 14 días se pudo observar que ANA con $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ indujo un 93% de enraizamiento promedio mientras que los tratamientos con AIA con $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB con $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ y control no indujeron el enraizamiento de las plantas de papa. Sin embargo, a los 28 días los tratamientos indujeron un 100 % de enraizamiento promedio para ANA, AIA, AIB a excepción del control que no indujo el enraizamiento de las plantas. También se obtuvo que la longitud de las raíces varió de acuerdo con cada tratamiento, para AIA con $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ se alcanzó una longitud promedio de 0,79 cm, para ANA con $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ se alcanzó una longitud promedio de 1,07 cm, AIB con $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ se alcanzó una longitud promedio de 3,5 cm (**Tabla 16**).

Al analizar el factor de enraizamiento *in vitro* en el grosor del tallo con la influencia de las auxinas a los 28 días se pudo observar que todos los tratamientos se mantuvieron en un promedio 1 mm de grosor del tallo para las auxinas; AIA con la concentración $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, ANA con la concentración $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, AIB con la concentración $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ y control. El promedio de número de hojas por planta para AIA con la concentración $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ alcanzó un promedio de

5,9 hojas, ANA con la concentración de 0,5 mg.L⁻¹ obtuvo un promedio de 0,93 hojas, AIB con la concentración 0,2 mg.L⁻¹ obtuvo un promedio de 6,47 hojas mientras que el control produjo 2,07 hojas en el medio de cultivo MS (**Tabla 17**).

Al analizar el factor de enraizamiento *in vitro* en la relación con el número de raíces y la influencia de las auxinas a los 28 días se pudo observar que con AIA en la concentración de 0,5 mg.L⁻¹ indujo un promedio de 6 raíces por planta a su vez con ANA a la concentración de 0,5 mg.L⁻¹ alcanzó un promedio de 5,8 raíces mientras que con AIB a la concentración de 0,2 mg.L⁻¹ se obtuvo un promedio de 5,2 raíces. Finalmente, en el control no se indujo la formación de raíces en el medio de cultivo MS (**Tabla 18**).

Criollo et al. (2016) afirmaron que las fitohormonas como las auxinas influyeron en el enraizamiento *in vitro* obteniendo un mayor porcentaje de enraizamiento, la auxina AIA con la concentración de 0.5 mg.L⁻¹ obtuvo el mayor porcentaje de plantas completas con el 36,9 % de plantas completas de *Solanum betaceum* a los 30 días mismas que se desarrollaron en el medio de cultivo MS.

Fior et al. (2018) afirmaron que la aplicación de la auxina ANA indujo la formación de raíces independientemente de sus concentraciones ya que de acuerdo con el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, el mayor porcentaje de enraizamiento se logró con 0,6 mg.L⁻¹ de ANA.

Según **Cárdenas et al. (2016)** determinaron que la auxina AIB con la concentración de 0,2 mg.L⁻¹ en los tratamientos generó una mayor longitud de microtallos, número de yemas, porcentaje de enraizamiento siendo esta auxina una buena alternativa para la micropropagación *in vitro* de *Solanum dolichosepalum* a partir de segmentos nodales.

Tabla 16. Influencia de diferentes auxinas sobre el porcentaje de enraizamiento *in vitro*, longitud de raíces por planta de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola a los 14 y 28 días.

TRATAMIENTOS	Enraizamiento (%)				Longitud de raíces (cm)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
AIA (0,5 mg.L ⁻¹)	0	23,50 b	1	38,50 a	0	23,50 a	0,79	32,67 a
ANA (0,5 mg.L ⁻¹)	93	51,50 a	1	36,50 a	0	23,50 b	1,07	27,83 d
AIB (0,2 mg.L ⁻¹)	0	23,50 b	1	38,50 a	3	51,50 a	3,50	52,00 b
CONTROL	0	23,50 b	0	8,50 b	0	23,50 b	0,00	9,50 c

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 17. Influencia de diferentes auxinas sobre grosor del tallo, número de hojas por planta de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de enraizamiento a los 14 y 28 días.

TRATAMIENTOS	Grosor del tallo (mm)				Número de hojas por planta			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
AIA (0,5 mg.L ⁻¹)	1	38,00 a	1	33,00	2,87	35,00 b	5,93	42,33 a
ANA (0,5 mg.L ⁻¹)	0	8,00 b	1	25,00	0,00	8,50 c	0,93	11,93 c
AIB (0,2 mg.L ⁻¹)	1	38,00 a	1	33,00	4,43	48,63 a	6,47	46,87 a
CONTROL	1	38,00 a	1	31,00	2,33	29,87 b	2,07	20,87 b

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 18. Influencia de diferentes auxinas sobre el número de raíces por planta de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de enraizamiento a los 14 y 28 días.

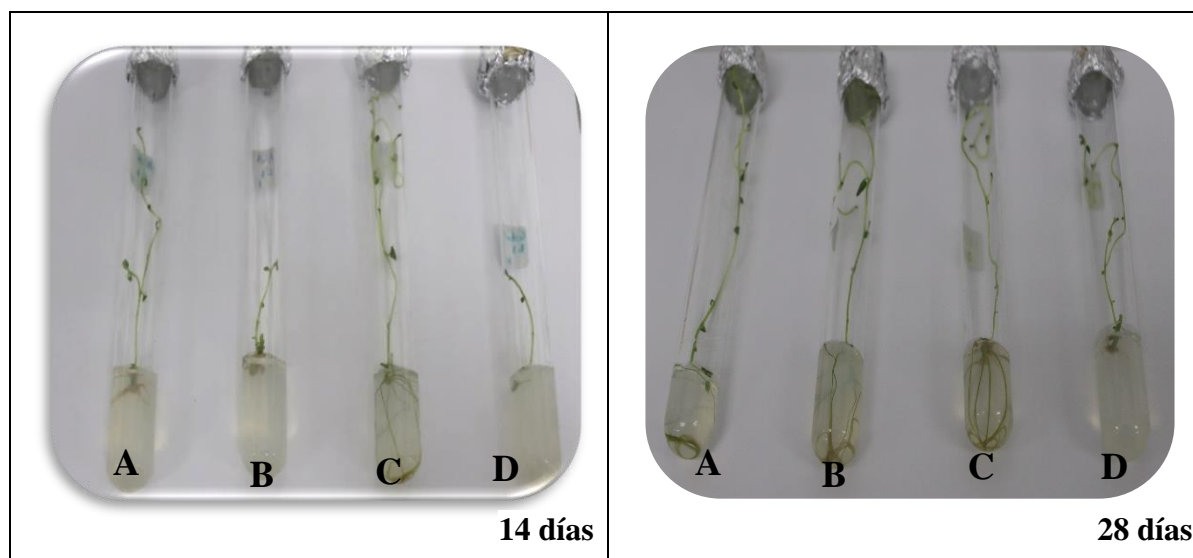
TRATAMIENTOS	Número de raíces por planta			
	14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
AIA (0,5 mg.L ⁻¹)	3,6	38,90 a	6,0	40,47 a
ANA (0,5 mg.L ⁻¹)	3,3	37,90 a	5,8	39,23 a
AIB (0.2 mg.L ⁻¹)	3,5	35,70 a	5,2	32,80 a
CONTROL	0,0	9,50 b	0,0	9,50 b

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

Figura 7. Enraizamiento *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia las diferentes auxinas; [Ácido indol-3-acético (AIA) (A), Ácido 1-naftalenacético (ANA) (B), Ácido indol-3-butírico (AIB) (C) y control sin auxinas (D)] a los 14 días y 28 días.

3.4. Aclimatizar las plantas enraizadas.

3.4.1. Influencia del sustrato en la aclimatación de plantas micropropagadas.

Al evaluar el efecto del tipo de sustrato en la fase de aclimatación se pudo observar que los tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas entre sí, para el porcentaje de supervivencia, altura de la planta, número de hojas por planta, porcentaje de plantas viables en la aclimatación *ex vitro* de *Solanum tuberosum* L. variedad Superchola a los 14 y 28 días (**Tabla 19**) y (**Tabla 20**).

Al analizar el factor de aclimatación *ex vitro* en el porcentaje de supervivencia con la influencia de diferentes sustratos a los 28 días, se obtuvo el mayor porcentaje de supervivencia con el sustrato de Turba al 100 % alcanzando el 100% de supervivencia de las plantas, para el sustrato de Turba más Arena en la relación de 2:1 se llegó al 90 % de supervivencia de las plantas. De igual manera que el sustrato de Turba más Tierra negra en la relación de 2:1 se alcanzó el 90% de supervivencia de las plantas siendo el sustrato de control el más bajo con un 80% para la supervivencia de plantas. Sin embargo, el promedio de las plantas más altas a los 28 días se obtuvo con el sustrato de Turba más Arena en la relación de 2:1 que llegó a un promedio de 5 cm de alto, seguido por el sustrato de Turba al 100 % con promedio 3,4 cm de alto, el sustrato de Turba más Tierra negra en la relación de 2:1 llegó a un promedio de 3,3 cm de alto y finalmente el control logró una altura promedio de 3 cm (**Tabla 19**).

Al analizar el factor de aclimatación *ex vitro* en el número de hojas por planta con la influencia de diferentes sustratos a los 28 días, con el sustrato de Turba al 100 % se obtuvo un promedio de 3,9 hojas por planta, el sustrato de Turba más Arena en la relación de 2:1 se obtuvo un promedio de 4,3 hojas por planta, mientras que con Turba más Tierra negra en la relación de 2:1 se alcanzó un promedio de 3,7 hojas por planta. Por último, el control llegó a un promedio de 3,2 hojas por planta. También se obtuvo con el sustrato de Turba al 100 % un promedio del 100% de plantas que crecieron, el sustrato de Turba más Arena en la relación de 2:1 se llegó al 90 % de plantas que crecieron, el sustrato de Turba más Tierra negra en la relación de 2:1

también alcanzó el 90% de plantas que crecieron y el sustrato de control llegó al 80% plantas de plantas que crecieron (**Tabla 20**).

Según **Rigato et al. (2001)** afirmaron que se obtuvieron plantas de papa listas para el trasplante a nivel de invernadero después de 20 días de haber sembrado los esquejes *in vitro* de papa. En el sustrato basado en turba además se alcanzó el porcentaje de enraizamiento del 100 % también las plantas desarrollaron tallos robustos, hojas más anchas y vigorosas sin la necesidad de añadir reguladores de crecimiento.

Tabla 19. Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el porcentaje de supervivencia, altura de plantas micropropagadas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de aclimatación a los 14 y 28 días.

TRATAMIENTOS	Supervivencia (%)				Altura de la planta (cm)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- Turba (100%)	100	23,00	100	22,50	1,2	16,80	3,4	19,75
T2- Turba más Arena (2:1)	90	21,00	90	20,50	1,6	19,80	5,0	25,50
T3- Turba más Tierra negra (2:1)	80	19,00	90	20,50	1,5	19,35	3,3	19,30
CONTROL	80	19,00	80	18,50	3,0	26,05	3,0	17,45

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.

Tabla 20. Influencia de diferentes mezclas de sustratos sobre el número de hojas por planta, porcentaje de plantas que crecieron de vitroplantas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola en fase de aclimatación a los 14 y 28 días.

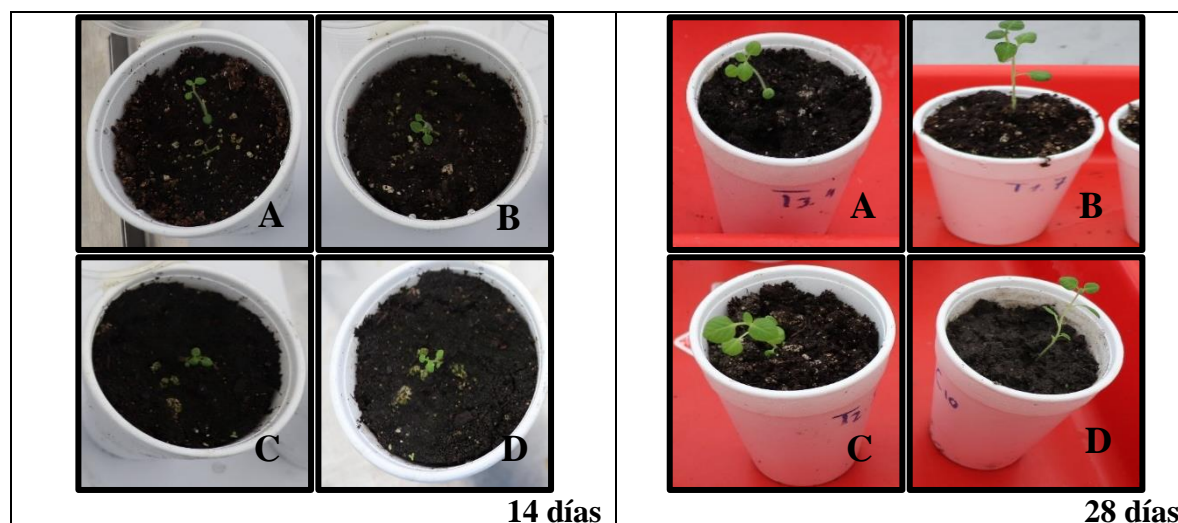
TRATAMIENTOS	Número de hojas por plantas				Plantas que crecieron (%)			
	14 días		28 días		14 días		28 días	
	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP	\bar{x}	RP
T1- Turba (100%)	2,1	19,30	3,9	21,25	70	18,00	80	19,50
T2- Turba más Arena (2:1)	3,5	25,95	4,3	24,75	90	22,00	90	21,50
T3- Turba más Tierra negra (2:1)	2,0	18,00	3,7	19,45	90	22,00	90	21,50
CONTROL	2,0	18,75	3,2	16,55	80	20,00	80	19,50

Nota: \bar{x} → media aritmética

RP→ Rangos promedios

Elaborado por: Pedro Aleaga

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=15$.



Elaborado por: Pedro Aleaga

Figura 8. Plantas aclimatadas de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia de diferentes sustratos; [turba (100 %) (A), turba + tierra negra en proporciones de (2:1) (B), turba + arena en proporciones de (2:1) (C), Control tierra negra + arena en proporciones de (2:1) (D) a los 14 días y 28 días.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. La adición de AIA, ANA y AIB no influyó sobre el establecimiento *in vitro* ni en el porcentaje de contaminación.
2. La adición de 2 isopentenil adenina (2iP) incrementó el número de brotes por planta y la altura.
3. El uso de AIA, ANA y AIBA no influyó sobre el número de entrenudos por planta.
4. La longitud de los entrenudos a los 14 días se incrementó con la adición de 1 mg.L⁻¹ de 6-BAP mientras que a los 28 días se favoreció con el uso de 1,5 mg.L⁻¹ de kinetina.
5. Con la suplementación de 3 mg.L⁻¹ 2 isopentenil adenina (2iP) y 1 mg.L⁻¹ de 6-BAP se incrementó el número de tallos.
6. Al utilizar 0,5 mg.L⁻¹ de ANA se incrementó el porcentaje de enraizamiento mientras que la longitud de las raíces se estimuló con la adición de 0.5 mg.L⁻¹ de AIA.
7. El uso de 0,5 mg.L⁻¹ de AIA aumentó el grosor del tallo y el número de hojas por planta en la fase de enraizamiento.
8. Con la adición de 0,5 mg.L⁻¹ de AIA, 0,5 mg.L⁻¹ de ANA y 0,2 mg.L⁻¹ de AIB se incrementó el número de raíces por planta.
9. Las mezclas de sustratos utilizadas no influyeron sobre el porcentaje de supervivencia, la altura de las plantas, el número de hojas por planta ni el porcentaje de plantas que crecieron en la fase de aclimatización.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Determinar la influencia de la citoquinina kinetina en la concentración de $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ para la obtención de microtubérculos de *S. tuberosum*.
2. Utilizar el medio de cultivo MS con sacarosa en la concentración de 30 g.L^{-1} y agar 7 g.L^{-1} para el establecimiento *in vitro* independientemente sin adición de auxinas ni citoquininas para el establecimiento *in vitro*.
3. Determinar el efecto de luces LED sobre la respuesta morfo-fisiológica de plantas de *S. tuberosum* establecidas *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelnour, A., Aguilar, M., & Valverde, L. (2011). Micropropagación de pilón (*Hieronyma alchorneoides*). *Agronomía Costarricense*, 35(2), 09-19. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0377-94242011000200001&script=sci_arttext.
- Adhikari, P. B., Yoon, C. S., & Kang, W. H. (2016). Callus induction and shoot regeneration of commercial tomatoes (*Solanum lycopersicum*) through another culture. In VI Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 1142 (pp. 389-394). https://www.actahort.org/books/1142/1142_59.htm
- Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, 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=S1794-24702019000200109
- Alvarado-Capó, Y., Martín, M. C., Mena, E., Suárez, M. A., Roque, B., Pichardo, T., ... & Leiva-Mora, M. (2015). Efecto de *Bacillus* spp. sobre el crecimiento y rendimiento agrícola de plantas *in vitro* de papa cv. Romano en casa de cultivo. *Biotecnología Vegetal*, 15(2). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/18>
- Assis, K. C. D., Pereira, F. D., Cabral, J. S. R., Silva, F. G., Silva, J. W., & Santos, S. C. D. (2012). *In vitro* cultivation of *Anacardium othonianum* Rizz.: effects of salt concentration and culture medium volume. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 34, 77-83. <https://www.scielo.br/j/asagr/a/nZntF6rpwGyt4Rc3w9NFsq/?format=pdf&lang=en>
- Bagot, M. E. (2005). El cultivo *in vitro* en la reproducción vegetativa en plantas de vivero. *Horticultura internacional*, (1), 50-57. http://www.horticom.com/Revistasonline/extras/2005/M_Estopa.pdf
- Barrera, E. J., Quintero, M. A., Pacheco, J. E., Mora, L. Y., Ruiz, J., Garzón, S. L., y Maldonado, J.C. (2017). Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. *Scielo. Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21-31. <http://www.scielo.org.co/pdf/cide/v9n1/0121-7488-cide-9-01-21.pdf>

- Basantes, F., Suárez, J. P. A., Illescas, L. M. A., & Hernández, L. D. R. V. (2020). Diagnóstico de la situación actual de la producción y comercialización de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en la Zona 1 del Ecuador. *e-Agronegocios*, 6(2), 103-120. <https://doi.org/10.18845/ea.v6i2.5103>
- Bonnett, D. (2019). "Resurgencia" y recolonización de la papa. Del mundo andino al escenario alimentario mundial, siglos XVI- XX. Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24562019000100027
- Capó, Y. A., Martín, M. C., González, N. P., Suárez, M. A., & Mora, M. L. (2004). Influencia de las concentraciones de sales MS y sacarosa del medio de cultivo para las plantas *in vitro* sobre el crecimiento de contaminantes bacterianos de la micropropagación de la caña de azúcar. *Bioteología Vegetal*, 4(3). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/409>
- Cárdenas, C. A., Pacheco, J. C y Vancela, A. L. (2016). Propagación *in vitro* de *Solanum dolichosepalum* (Solanaceae). Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-74882016000200001
- Castañeda, O., Gómez, F.C., Trejo, L. I., Pastelín, M. C., Martínez, Y., González, T y Guevara, M. T. (2009). ESTADO NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE VITROPLANTAS DE CAÑA DE AZÚCAR EN RESPUESTA A REGULADORES DE CRECIMIENTO. *Terra latinoamericana*, 27(3), 177-185. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-57792009000300002&script=sci_arttext
- Castro, J. I., Agramonte, D., Alvarado-Capó, Y., de Fera, M., & Pugh, T. (2012). Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. *Bioteología vegetal*, 12(1). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/495/pdf>
- Criollo, H., Insuasti, K y Delgado, W. (2016). Regeneración *in vitro* de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 252-261. Scielo. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortícolas/article/view/5750

- El Dessoky, S., Attia, A. O., Ismail, I. A., & El-Hallous, E. I. (2016). *In vitro* Propagation of Potato under Different Hormonal Combinations. *International Journal*, 4(1), 684-689. https://www.researchgate.net/profile/Attia-Attia/publication/293821703_In_vitro_Propagation_of_Potato_under_Different_Hormonal_Combinations/links/56c1b90f08aedba05670098/In-vitro-Propagation-of-Potato-under-Different-Hormonal-Combinations.pdf
- Fior, C. S., Calil, A. C., de Souza, P. V. D., & Schwarz, S. F. (2018). Impacto de las concentraciones de ANA y sacarosa en el enraizamiento *in vitro* de *Butia odorata* (Barb. Rodr.) *Noblick. Iheringia, Série Botânica.*, 73(1), 13-21. <https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/328>
- Flores, R., Naranjo, H., Galárraga, J., Sánchez, M. P., & Viteri, S. (2012). Estudio de la demanda de semilla de papa de calidad en Ecuador. <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/67210/77651.pdf?sequence=2>
- Freire-Seijo, M., García-Ramírez, Y., Hurtado, O., León, M., Rosabal, L. F., Cruz-Martín, M., ... & Leiva-Mora, M. (2011). Combinación de técnicas biotecnológicas y tradicionales para la propagación de diferentes especies de bambú. *Biotecnología vegetal*, 11(3). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/241>
- Gabriela, B y Stef de Hann (2019). Potencial nutricional de la papa. Centro internacional de la papa CIP. <https://cipotato.org/wp-content/uploads/2019/08/CIP-PANAMERICANOS-LIMA-2019.pdf>
- García-Águila, L., Álvarez, J. M., Alvarado-Capó, Y., González, M., La, M., Mirabal, D., & Romero, C. (2012). Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de plantas jóvenes de *Annona muricata* L. *Biotecnología Vegetal*, 12(4). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/179/154>
- Gómez, P., Hoyos, R y Chavarriaga, P. (2017). Organogenesis *in-vitro* using three tissues types of tree tomato [*Solanum betaceum* (Cav.)]. *Agronomía Colombiana*, 35(1), 5-11. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99652017000100005&script=sci_arttext&tlng=en

- Indacochea, B., Parrales, J., Hernández, A., Castro, C., Vera, M., Zhindón, A., & Gabriel, J. (2018). Evaluación de medios de cultivo in vitro para especies forestales nativas en peligro de extinción en Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 63-89. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242018000100063
- INIAP (2016). Catálogo de variedades de papa del Ecuador. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2748/1/iniapscpm427.pdf>
- INIAP (s.f.). PAPA INIAP SUPERCHOLA. <https://agroscoPIO.com/producto/papa-superchola/>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos INEC. (2012). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC-2012. https://www.ecuadorencifras.gob.ec//documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2012/PRESENTACION-Espac.pdf
- Leiva-Mora, M. (2006). Mejoramiento genético tradicional y empleo de técnicas biotecnológicas en la búsqueda de resistencia frente a los principales patógenos fúngicos de *Musa spp.* *Biotecnología Vegetal*, 6(3). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/414>
- Leverato, C. J. (2015). El cultivo de papa. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. <https://inta.gob.ar/noticias/el-cultivo-de-papa>
- López-Medina, S. E., Mostacero-León, J., Gil-Rivero, A. E., López-Zavaleta, A., Anthony, J., & Zapata, L. V. (2019). Efecto sinérgico del ácido giberélico y del ácido indolacético en la propagación in vitro de *Solanum tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”. *Rebiol*, 39(2), 49-57. <https://core.ac.uk/download/pdf/287171528.pdf>
- López-Medina, E., Mostacero-León, J., Gil-Rivero, A., López-Zavaleta, A., & De La Cruz-Castillo, A. (2019). Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* Var. Maria Reiche. <https://core.ac.uk/download/pdf/267888164.pdf>
- Monar-Benavides, C., & Silva-García, D. (2018). Efecto del proceso de selección positiva sobre la calidad de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador. *Revista de Investigación Talentos*, 2018, 503-509. <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/112/189>

- Montesdeoca, F., Reinoso, I., Montesdeoca, L., & Andrade-Piedra, J. L. (2012). Sistema “mixto” de producción de semilla de papa entre el INIAP y el CONPAPA. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/66303>
- Nhut, D. T., Nguyen, N. H., & Thuy, D. T. T. (2006). A novel *in vitro* hydroponic culture system for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber production. *Scientia Horticulturae*, 110(3), 230-234. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423806003104>
- Ojeda, M., Mogollón, N., de Camacaro, M. P., Suárez, E., Hernández, N., & Venezuela, B. L. (2014). Evaluación del crecimiento de las vitroplantas y la microtuberización de dos materiales de papa. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 191-202. https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_2014/bot/botsup112014191202.pdf
- Onamu, R., Legaria Solano, J. P., Sahagún Castellanos, J., & Pérez Nieto, J. (2012). Análisis de marcadores morfológicos y moleculares en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista fitotecnia mexicana*, 35(4), 267-277. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000400003
- Pino, M. T., Ávila, A., Alvarado, A. M., Jeknic, Z., & Chen, T. H. (2013). Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 40(1), 171-184. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5333982>
- Priedniece, V., Spalvins, K., Ivanovs, K., Pubule, J., & Blumberga, D. (2017). Bioproducts from potatoes. A review. *Rigas Tehniskas Universitates Zinatniskie Raksti*, 21(1), 18-27. <https://sciendo.com/downloadpdf/journals/rtuuct/21/1/article-p18.pdf>
- Veitía, N., Alvarado-Capó, Y., García, L. R., Bermúdez-Caraballosa, I., & Leiva-Mora, M. (2008). Aplicación de la selección *in vitro* en el mejoramiento genético de la papa para la resistencia al Tizón temprano. *Biotecnología vegetal*, 8(1). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/329>

- Rigato, S., González, A y Huarte, M. (2001). Producción de Plántulas de Papa a Partir de Técnicas Combinadas de Micropropagación e Hidroponía para la Obtención de Semilla Prebásica. Danialnet. <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/5512131.pdf>
- Rodríguez, A. J., Rodríguez, A., Quintero, S., Torres, M. D. L. A., & Fundora, Z. (2004). Influencia de los medios de cultivo en la micropropagación de plátano (*Musa spp.*) y malanga (*Xanthosoma sagittifolium* Schott.). *Cultivos Tropicales*, 25(1), 23-26. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193230179004.pdf>
- Rojas Rodriguez, K., & Ortuño, 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. *Acta nova*, 3, 697-719. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1683-07892007000200005&script=sci_arttext
- Singh, B. (2015). Effect of antiviral chemicals on *in vitro* regeneration response and production of PLRV-free plants of potato. *Journal of crop science and biotechnology*, 18(5), 341-348. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12892-015-0069-x>
- Sukarnih, T., Rudyana, Y., Hanifah, N. F., & Sa'adah, N. (2021). Micropropagation of red ginger (*Zingiber officinale* Rosc. Var. rubrum) using several types of cytokinins. *In Journal of Physics: Conference Series*, 1751(1), 012051. IOP Publishing. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1751/1/012051/pdf>
- Suquilanda, M. (2011). Producción orgánica de cultivos andinos. Manual Técnico. FAOEC, UNOCANC, MAGAP. Publiasesores, Quito. https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf
- Yagiz, A. K., Yavuz, C., Tarim, C., Demirel, U., & Caliskan, M. E. (2020). Effects of growth regulators, media and explant types on microtuberization of potato. *American Journal of Potato Research*, 97(5), 523-530. https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Effects+of+Growth+Regulators%2C+Media+and+Explant+Types+on+Microtuberization+of+Potatomicrotuber+production&btnG=

ANEXOS

Figura 9. Diagrama del proceso que se realizó para la desinfección de los tubos de ensayo de vidrio.

DESINFECCIÓN DE LOS TUBOS DE ENSAYO DE VIDRIO



Colocar los tubos en una olla para lavar los con jabón, para retirar cualquier impureza de los mismos.



Colocar la olla en la estufa y calentar hasta que el agua hierva y apagar para que se enfríe.



Enjuagar los tubos con agua corrida uno por uno, luego dejar estilar.



Finalmente desinfectar con hipoclorito de sodio (NaClO) por 5 min luego dejar estilar y colocamos en gradillas de 5 x 6 agujeros.



Elaborado por: Pedro Aleaga



Elaborado por: Pedro Aleaga

Figura 10. Microtubérculos de *S. tuberosum* L. Var. Superchola propagados vía organogénesis directa en el medio de cultivo de MS (Murashige y Skoog) con la influencia de la citoquinina; Kinetina (C) después de dos meses.