

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



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

“Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var.
Superchola”

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

AUTORA

JOSELYN MISHHELL PEÑA GUALLPA

TUTOR

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

AMBATO – ECUADOR

2023

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

“La suscrita, PEÑA GUALLPA JOSELYN MISHELL, portadora de cédula de identidad número: 1805159066, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “**MICROTUBERIZACIÓN IN VITRO DE *Solanum tuberosum* L. VAR. SUPERCHOLA**” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas”



.....
PEÑA GUALLPA JOSELYN MISHELL

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **“MICROTUBERIZACIÓN *IN VITRO* DE *Solanum tuberosum* L. VAR. SUPERCHOLA”**, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

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

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



.....

PEÑA GUALLPA JOSELYN MISHELL

**“MICROTUBERIZACIÓN *IN VITRO* DE *Solanum tuberosum* L. VAR.
SUPERCHOLA”**

REVISADO POR:

.....
Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

.....
PhD. OSCAR PATRICIO NUÑEZ.
PRESIDENTE TRIBUNAL

FECHA
28/02/2023

.....
Ing. EDWIN PALLO.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA
28/02/2023

.....
Ing. JORGE DOBRONSKI A.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA
28/02/2023

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por darme la salud y vida para llegar alcanzar esta gran meta, gozando de cada una de sus bendiciones y brindándome la sabiduría para culminar con mi carrera universitaria.

A mis padres Geovanny y Jeanetteh por ser mi apoyo incondicional, las dos personas que siempre han depositado su confianza en mí y hacer una mujer de bien, por estar en el trascurso de mi vida universitaria y enseñarme a luchar siempre por cada uno de mis sueños sin importar las adversidades que pueda llegar a tener en la vida. Dios le pague por todo, son los mejores padres que puedo tener en la vida.

A mis hermanos, Alex y Brittany quienes han estado siempre conmigo en las buenas y malas, brindándome su apoyo incondicional, confiando y anhelando disfrutar de cada uno de mis logros. A mi pequeño sobrino Adhemar, con su dulzura y encanto llegó alegrar mi vida y motivarme cada día a ser mejor.

A mis amigos, en especial a Christian, Eduardo, Hugo y Elizabeth con quienes formé una bonita y sincera amistad, gracias por apoyarme y darme ánimos cuando los necesité.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme siempre fuerzas y permitirme llegar a este punto de mi vida junto a mi familia y personas que me han motivado y apoyado para lograr culminar con mis estudios universitarios.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias por abrirme las puertas y darme la oportunidad de formarme profesionalmente, por cada una de las enseñanzas, anécdotas y momentos únicos que me han permitido cumplir con este sueño tan maravilloso que es convertirme en Ingeniera Agrónoma.

A mi tutor de tesis Dr. Michel Leiva Mora, por aceptarme para realizar este proyecto de investigación, quien desde el primer día compartió sus conocimientos, su tiempo y paciencia en todo el proceso investigativo, lo cual ha permitido obtener resultados positivos y de igual manera al Ing. Edwin Pallo y al Ing. Jorge Dobronski por sus recomendaciones y enseñanzas para la elaboración de este proyecto.

A la Ing. Catherine Silva por apoyarme e impartirme sus conocimientos para la culminación de este proyecto.

A todos los docentes que compartieron sus conocimientos y experiencias académicas para llegar a este punto de mi vida. A todos mis compañeros con quienes compartimos aprendizajes y anécdotas durante este trascurso estudiantil.

“A todos muchas gracias”

PEÑA GUALLPA JOSELYN MISHHELL

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I	3
MARCO TEÓRICO.....	3
1.1. Introducción	3
1.2. Antecedentes investigativos.....	5
1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual.....	6
1.3.1. Generalidades	6
1.3.2. Situación del cultivo en el Ecuador	7
1.3.3. Composición nutricional.....	8
1.3.4. Clasificación taxonómica	9
1.3.5. Características botánicas.....	9
1.3.6. Requerimientos edafoclimáticos	10
1.3.7. Plagas y enfermedades.....	12
1.3.8. Medio de cultivo y hormonas	14
1.3.9. Cultivo <i>in vitro</i>	15
1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	17
1.4.1. HIPÓTESIS	17
1.4.2. OBJETIVOS	17
CAPÍTULO II.....	18
METODOLOGÍA.....	18
2.1. Ubicación del experimento (ensayo)	18
2.2. Características del lugar	18
2.3. Equipos y materiales	18

2.3.1. Equipos.....	18
2.3.2. Materiales.....	19
2.3.3. Reactivos	20
2.4. Factores en estudio.....	20
2.5. Diseño experimental.....	21
2.6. Manejo del experimento	28
2.6.1. Ensayo N° 1. Analizar el efecto de sales MS sobre la producción de microtubérculos.....	28
2.6.2. Ensayo N° 2. Evaluar el efecto del tipo de citoquininas y sus concentraciones sobre la producción de microtubérculos.....	31
2.6.3 Ensayo N° 3. Analizar el efecto del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.....	33
2.6.4. Ensayo N° 4. Establecer la concentración de sacarosa que favorezca la producción de microtubérculos en el medio de cultivo MS.....	35
2.7. Variables respuesta	37
2.8. Procesamiento de la información.....	37
CAPÍTULO III	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
3.1. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS en el medio semisólido.	38
3.1.1. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos.....	38
3.2. Efecto de citoquininas sobre la producción de microtubérculos.	41
3.2.1 Efecto de la Kinetina sobre la producción de microtubérculos.	41
3.2.2 Efecto de 6-bencilaminopurina sobre la producción de microtubérculos.	44
3.2.3 Producción de microtubérculos con el efecto de 6-bencilaminopurina.....	47
3.3. Efecto del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.	50

3.4. Efecto de la sacarosa sobre la producción de microtubérculos.	54
CAPÍTULO IV	59
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
4.1. CONCLUSIONES	59
4.2. RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional por cada 100 g de porción comestible de papa (<i>Solanum tuberosum</i>).....	8
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).	9
Tabla 3. Composición del medio de cultivo MS (1962).....	14
Tabla 4. Porcentaje de concentraciones de sales MS en el medio semisólido.....	21
Tabla 5. Diseño de las diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos.....	22
Tabla 6. Tipos de citoquininas y sus concentraciones	22
Tabla 7. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones de citoquininas sobre la producción de microtubérculos.....	24
Tabla 8. Tipo de ácido giberélico y sus concentraciones	25
Tabla 9. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.....	26
Tabla 10. Porcentaje de sacarosa en el medio MS semisólido	26
Tabla 11. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones de sacarosa sobre la producción de microtubérculos.....	27
Tabla 12. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.	39
Tabla 13. Influencia de diferentes concentraciones de Kinetina sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.	42

Tabla 14. Influencia de diferentes concentraciones de 6-Bencilaminopurina sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.	45
Tabla 15. Influencia de diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 52, 65, 75 y 90 días.	47
Tabla 16. Datos estadísticos de la producción de microtubérculos en el efecto de 6-BAP en relación del diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca.	49
Tabla 17. Influencia de diferentes concentraciones de ácido giberélico sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.	50
Tabla 18. Influencia de diferentes concentraciones de AG3 sobre la producción de microtubérculos <i>in vitro</i> de plantas de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 65, 75 y 90 días de evaluados.	52
Tabla 19. Efecto del AG3 sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de microtubérculos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola.	53
Tabla 20. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola a los 14, 21, 28, 35 y 42 días.	55

Tabla 21. Influencia de diferentes concentraciones de Sacarosa sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 65, 75 y 90 días..... 57

Tabla 22. Efecto de diferentes concentraciones de sacarosa sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola..... 58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación del medio de cultivo y sus diferentes concentraciones.	29
Figura 2. Manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar.....	31
Figura 3. Efecto del tipo de citoquininas.	32
Figura 4. Efecto del ácido giberélico.	34
Figura 5. Efecto de la sacarosa.	36
Figura 6. Segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola establecidos <i>in vitro</i> con diferentes concentraciones de sales MS al 100% (A), 75% (B), 50% (C), 25% (D) y sin sales de medio MS a los 28 días.....	40
Figura 7. Segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola establecidas <i>in vitro</i> con diferentes concentraciones de Kinetina al 2 mg. L ⁻¹ (A), 4 mg. L ⁻¹ (B), 6 mg. L ⁻¹ (C) y sin Kinetina (D) a los 28 días.....	43
Figura 8. Segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola establecidos <i>in vitro</i> con diferentes concentraciones de 6-BAP: 2.3 mg. L ⁻¹ (A), 2.5 mg. L ⁻¹ (B), 2.7 mg. L ⁻¹ y sin 6-BAP a los 28 días.....	46
Figura 9. Segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola establecidas <i>in vitro</i> con diferentes concentraciones de AG3: 0.2 mg. L ⁻¹ (A), 0.4 mg. L ⁻¹ (B), 0.6 mg. L ⁻¹ (C) y sin AG3 (D) a los 28 días.	51
Figura 10. Segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola establecidos <i>in vitro</i> con diferentes concentraciones de sacarosa al 6 % (A), 8 % (B), 10 % (C) y sin sacarosa (D) a los 42 días.....	56

RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, cuya finalidad fue evaluar el efecto de sales MS, los reguladores de crecimiento y la sacarosa en la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola. Para la microtuberización se preparó medios de cultivo con las diferentes concentraciones al 0, 25, 50, 75 y 100 % de sales MS (Murashige y Skoog), sacarosa 30 g. L⁻¹ y agar 7 g. L⁻¹; MS + 0, 2, 4 y 6 mg. L⁻¹ de Kinetina; MS + 0, 2.3, 2.5, 2.7 mg. L⁻¹ de 6-BAP; MS + 0, 0.2, 0.4 y 0.6 mg. L⁻¹ de AG3; MS + 0, 6, 8 y 10 % de sacarosa. Las variables evaluadas fueron: la altura de la planta, número de hojas, número de nudos, número de microtubérculos, diámetro del microtubérculo, longitud del microtubérculo, número de yemas por microtubérculo, masa fresca, masa seca y la relación de masa fresca/ masa seca. Las concentraciones de sales MS de 75 y 100 % a los 21 y 28 días después de su siembra obtuvieron mayor altura de la planta, así mismo para el número de hojas a excepción del 50 % tuvieron un mayor número para esta variable y el número de nudos en todas sus concentraciones incrementaron menos el control. Respecto a la concentración y tipo de fitohormona la Kinetina a los 28 días en el control incrementó la altura de la planta, sin embargo, no existieron diferencias significativas entre las demás variables. El mejor tratamiento en el número de microtubérculos a los 75 y 90 días después de la siembra fue 2.5 mg. L⁻¹ de BAP, alcanzando un rango promedio de 15.60 respectivamente. Las concentraciones de AG3 sobre la producción de microtubérculos no mostraron diferencias estadísticas significativas. La adición de sacarosa al medio de cultivo MS en todas sus concentraciones incrementó la altura de la planta, número de hojas y número de nudos.

Palabras clave: ácido giberélico, bencilaminopurina, kinetina, microtuberización, y sacarosa.

ABSTRACT

The research was carried out in the Laboratory Plant Biotechnology at the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato, whose purpose was to evaluate the effect of MS salts, growth regulators and sucrose in the *in vitro* microtuberization of *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola. For microtuberization, the culture medium was prepared with the different concentrations of 0, 25, 50, 75 and 100 % of MS salts (Murashige and Skoog), sucrose 30 g. L⁻¹ and agar 7 g. L⁻¹; MS + 0, 2, 4 and 6 mg. L⁻¹ of Kinetina; MS + 0, 2.3, 2.5, 2.7 mg. L⁻¹ of 6-BAP; DM + 0, 0.2, 0.4 and 0.6 mg. L⁻¹ of AG3; DM + 0, 6, 8 and 10 % sucrose. The variables evaluated were: the plant height, number of leaves, number of nodes, number of microtubers, microtuber diameter, microtuber longitude, number of shoots for microtuber, fresh mass, dry mass and the relation of fresh mass/dry mass. The concentrations of MS salts of 75 and 100 % at 21 and 28 days after planting obtained a greater plant height, also for the number of leaves with the exception of 50 % had a greater number for this variable and the number of nodes in all concentrations increased except the control. With respect to the concentration and type of phytohormone, Kinetin at 28 days in the control increased plant height; however, there were no significant differences between the other variables. The best treatment in the number of microtubers at 75 and 90 days after planting was 2.5 mg. L⁻¹ of BAP, reaching an average range of 15.60 respectively. The concentrations of AG3 over the production of microtubers did not show significant statistical differences. The addition of sucrose to the culture medium MS at all concentrations increased plant height, number of leaves and number of nodes.

Keywords: Benzylaminopurine, gibberellic acid, kinetin, microtuberization and sucrose.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Introducción

El cultivo de papa es reconocido a nivel mundial por ser el cuarto cultivo más importante, mismo que proviene de América del Sur, su origen se ubica entre Perú Central, el Sur de Chile y Ecuador, recalcando que su ubicación principal es en los Andes del Lago Titicaca en sus orillas entre Bolivia y Perú. Según lo mencionado por **Mora *et al.* (2018)**, quiénes argumentaron que Carchi es conocida por ser la segunda provincia más productora de papa en el Ecuador, pues su promedio nacional en rendimiento es de 16,28 t ha⁻¹ hasta el 2015.

El botánico ruso Nikolai I. Vavilov propuso en el año 1951 que el origen geográfico de las especies se encuentra en las regiones con mayor diversidad genética, en el caso de la papa (*Solanum tuberosum*) su mayor diversidad genética se la encuentra al sur y norte del Lago Titicaca (**Garzón, 2007**).

La papa es conocida como una planta dicotiledónea herbácea, que se encuentra dentro de la familia Solanácea, del género *Solanum* y especie *tuberosum*. Las variedades actualmente usadas son híbridos resultantes de cruces interespecíficos de las especies *dimisum* y *andigenum* con la *tuberosum*. (**Hernández, 1999**).

Rodríguez (2010) argumentó que el origen de la papa ha sido resultado de las hibridaciones entre miembros diploides de las especies *S. brevicaulis*, que en procesos de duplicación cromosómica dieron origen a los tetraploides, es decir, a las especies de *S. tuberosum*, quiénes fueron plantadas en Chile en sus zonas costeras, dónde se habrían expandido a nivel mundial.

Según **Salomón (2013)** la papa puede ser propagada sexualmente ya sea por semilla botánica o semilla sexual (SSP), éstas tienen grandes ventajas en cuanto a la reproducción clonal convencional, pues ayuda a reducir la presencia de virus y agentes patógenos. Cabe recalcar que la semilla SSP puede ser almacenada entre los 18 y 20 °C sin perder su viabilidad durante muchos años y al momento de su plantación solo se necesita de 100 a 150 gr por una hectárea en comparación con 2 y 3 toneladas por ha de tubérculos/semilla, permitiendo una rápida introducción a nuevos cultivares de papa en cuanto a la producción comercial. Sin embargo, las desventajas de la producción de papa por semilla sexual es que el cultivo se vuelve más vulnerable a los factores bióticos y abióticos, al igual que tiende a producirse en un ciclo más largo y con poca uniformidad en condiciones agronómicas.

El cultivo de papa también es propagado de forma asexual a través de tubérculos, este tipo de propagación es la más utilizada. Al usar los tubérculos, estos tienden a ser propensos a la infección acumulativa de microorganismos, puesto que, los métodos convencionales para la micropropagación vienen acompañados de varios patógenos tales como: bacterias, hongos y virus, que perjudican la calidad comercial de los tubérculos, su rendimiento y el intercambio de germoplasma (**Castro et al., 2022**).

Según **Cabrera (2009)** las plantas *in vitro* son capaces de producir microtubérculos en condiciones adecuadas, estos por lo general, se producen en el medio de cultivo o en la parte aérea de la planta. Los microtubérculos y plantas *in vitro* ofrecen grandes ventajas como: estar libres de patógenos, reducen el costo en cuanto a las labores agronómicas, pueden ser propagadas en cualquier época del año, se pueden obtener un gran número de plantas y microtubérculos *in vitro* en corto tiempo y llegan a facilitar el intercambio del material genético.

La biotecnología es de gran importancia para la obtención de una semilla de alta calidad de papa *Solanum tuberosum*, misma que, contribuye en la multiplicación del material vegetal en cuanto a la calidad morfológica, fisiológica, fitosanitaria y genética de papa. Al utilizar los Sistemas de Inmersión Temporal y medios de cultivo en estado sólido, semisólido y líquido se puede obtener microtubérculos de alta calidad y junto a las plantas *in vitro* pueden apoyar un sistema de producción de semilla certificada (**Vega et al., 2016**).

1.2. Antecedentes investigativos

Según lo mencionado por **Nova et al. (2017)** la investigación titulada “Expression of recombinant Cry 1Ac protein in potato plant cell suspension culture: Establishment of culture and optimization of biomass and protein production by nitrogen supply” indica que los trabajos que se han realizado sobre la papa a nivel *in vitro* han contribuido con una gran cantidad de información en cuanto al crecimiento y sus composiciones hormonales en distintos medios de cultivo. Estos autores analizaron el efecto de concentraciones de Kinetina y 2,4-D con el medio de cultivo MS, 2,0 g L⁻¹ de Phytigel®, 30 g. L⁻¹ de sacarosa y un pH de 5.8 para la formación de callos y vía organogénesis.

Amina et al. (2021) en su artículo titulado “Evaluation of different culture media and activated charcoal supply on yield and quality of potato microtubers grown *in vitro*”, argumentaron que al utilizar plantas *in vitro* de *S. tuberosum* para efectuar su multiplicación y microtuberización lograron una producción rápida de semilla de alta calidad, en 90 días con plantas libres de enfermedades, durante todo el año, lo anterior permite satisfacer y suministrar la demanda y calidad de semilla de papa.

Saker et al. (2012) en su artículo titulado “Selection of an efficient *in vitro* micropropagation and regeneration system for potato (*Solanum tuberosum*) cultivar Desiree” mencionaron que para el desarrollo de microtubérculos *in vitro* es recomendable el cultivo en serie de segmentos nodales con sus yemas axilares, mismos que influyen en los cambios fisiológicos y estructurales de la planta. Las características ambientales como la luz y la temperatura cumplen un papel muy importante en la formación de los microtubérculos, al igual que, la utilización de reguladores de crecimiento y productos naturales. La microtuberización *in vitro* ha logrado compartir un modelo experimental muy eficiente para los estudios metabólicos debido al desarrollo y características estructurales similares entre los microtubérculos cultivados *in vitro* e *in vivo* de la papa.

Cabrera et al. (2009) a través de su investigación titulada “Protocolo para la formación de microtubérculos de ñame (*Dioscorea alata* L.) en sistema de inmersión temporal” señalaron que

al combinar los medios de cultivo en sistemas semi-automizados y líquidos han incrementado la eficiencia de propagación *in vitro* de varias especies de papa.

Maradiaga et al. (2016) en su artículo titulado “Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar burren, en biorreactores de inmersión temporal” argumentaron que los microtubérculos de papa creado *in vitro*, tienen grandes propiedades para ser perfectos propágulos en la producción de semillas de alta calidad de papa, llegando a ser utilizada como origen de material vegetativo para la productividad de semilla prebásica en invernaderos del cultivo de papa.

Lázaro et al. (2021) mediante su trabajo de investigación “Multiplicación y reducción del crecimiento *in vitro* de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja)” mencionaron que el cultivo *in vitro* de algunas especies nativas permitirá desarrollar genotipos nuevos con el empleo de diferentes explantes, tales como: esquejes, anteras, estolones y nudos para lograr la regeneración, microtuberización, inducción a embriogénesis, micropropagación, mismos que aportan investigaciones para el mejoramiento genético y la conservación de las plantas.

1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1. Generalidades

Estévez et al. (2006) argumentaron que la papa es uno de los cultivos más consumidos e importantes a nivel mundial, por su alto contenido de proteínas, vitaminas, sales minerales y calorías; además es considerado como un cultivo de ciclo corto, por ello muchas personas de todo el mundo se dedican a sembrar y obtener variedades mejoradas. En la actualidad el cultivo de la papa ha sobresalido por su gran producción, la FAO ha determinado que a nivel mundial su producción fue de 307.4 millones de toneladas, con un rendimiento de 16.5 t. ha⁻¹ en 18 millones de hectáreas.

Según **Priyadarshani et al. (2018)** la baja producción del cultivo de papa es un gran obstáculo para abastecer grandes pérdidas causadas por los requerimientos que los consumidores necesitan en todo el mundo, ya que existen altas tasas de susceptibilidad frente a plagas y enfermedades, además su multiplicación es muy baja, por ello, se busca la manera de desarrollar un método de propagación alternativo que nos permita obtener semilla de calidad.

El cultivo *in vitro* requiere de un control ambiental preciso, tanto químico como físico; dentro de los factores abióticos que deben controlarse están: la temperatura, el fotoperiodo, la humedad, el pH, la composición del medio de cultivo y la luz, ya que estos factores ayudan al crecimiento y desarrollo de las plantas (**Rizzo, 2020**). Hoy en día los laboratorios de cultivos de tejidos utilizan lámparas fluorescentes que emiten longitudes de ondas específicas para favorecer la fotosíntesis y permiten una mayor vida útil a las plantas.

1.3.2. Situación del cultivo en el Ecuador

La papa es un elemento muy importante en la canasta básica del Ecuador, puesto que este cultivo es tradicional de la Sierra Ecuatoriana, la mayor parte se ubica sobre los 3000 m de altitud, en los valles interandinos. El ministerio de Agricultura y Ganadería identifica a tres distintas regiones de producción del cultivo de papa, entre ellas están: norte, sur y centro. La provincia de Carchi sobresale como la mayor productora de papa en el país, ya que sus condiciones agroecológicas son favorables, tiene rápido acceso a los mercados, un gran poder económico entre pequeños y medianos agricultores, lo que ofrecen en la actualidad un informe con relevante visión actualizada del sector de papa (**del Carmen Suárez, 2007**).

En el Ecuador la micropropagación podría ser una alternativa viable para la producción de semilla sana de papa. Cabe recalcar que la semilla es el factor principal para la obtención de altos rendimientos en este cultivo. En la provincia de Tungurahua desde que la agricultura se extendió, la papa se fue propagando en varias áreas geográficas, dando como resultado la aparición de nuevas variedades adaptadas a cada lugar, las cuales se distinguen por el color de sus flores, tipo de hoja

y principalmente las particularidades de sus tubérculos, tales como: sabor, forma y color (**Parra et al., 2022**).

Hoy en día una de las ventajas que el país posee son las entidades de créditos agrícolas que permite evaluar las clases de tecnologías agrícolas en cuanto a la producción de papa, entre ellas están: semi-tecnificada, altamente tecnificada y la tradicional, lo que lleva a la cantidad y número de insumos aplicados. Anteriormente estas clases dividían a personas con grandes extensiones de tierra, es decir, personas hacendadas y pequeños agricultores; en la actualidad, en Carchi ya no existen dichas distinciones, lo que conlleva a que todos los productores se clasifiquen en la categoría de semi-tecnificados (**Benaviddes et al., 2018**).

1.3.3. Composición nutricional

La papa es considerada como un alimento que posee altos contenidos de proteínas, micronutrientes, vitamina C que contribuyen en la absorción de vitaminas B1, B2 y B6, además es rico en minerales tales como: Fe, K, Mg, Ca, Na y P. También contiene otros compuestos esenciales como antioxidantes alimentarios que tienen fibra, lo cual previene el envejecimiento y ayuda a la salud humana (**Naranjo y Arias, 2020**).

Tabla 1. Composición nutricional por cada 100 g de porción comestible de papa (*Solanum tuberosum*).

NUTRIENTE	CANTIDAD
Proteína	2,5 g
Lípidos totales	0,2 g
Energía	88,0 Kcal
Agua	77,3 g
Fibra	2,0 g
Hidratos de carbono	18,0 mg

Fuente: EFSA, 2010

1.3.4. Clasificación taxonómica

La papa pertenece a la especie *Solanum tuberosum* L., de la familia Solanaceae, género *Solanum* y orden Solanales.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la papa (*Solanum tuberosum* L.).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Género	Solanum
Especie	<i>Solanum tuberosum</i> L.

Fuente: Márquez *et al.*, 2020

1.3.5. Características botánicas

La papa es conocida como una planta dicotiledónea, herbácea, misma que proporciona un sistema subterráneo rizomatoso que produce los tubérculos y otro aéreo, recalando que su reproducción es por vía asexual (Márquez *et al.*, 2020).

Raíces: la raíz es capaz de llegar a avanzar hasta unos 0,8 m de profundidad, con un sistema ramificado. Las plantas que provienen de tubérculos poseen raíces adventicias, es decir, se desarrollan mediante yemas adventicias de tubérculos, por eso es importante al momento de la siembra plantar a una adecuada profundidad para que las raíces se adapten en los tallos comprendidos entre la semilla y la superficie del suelo (Gnanasekaran y Basalingappa, 2018).

Tallos: se les caracteriza, por tener 5 tipos de tallos entre los cuales encontramos: 2 tallos subterráneos (tubérculos y rizomas); 3 tallos (aéreo, circular y angular en división transversal donde se disponen las hojas) (**Gnanasekaran y Basalingappa, 2018**).

Hojas: son bifaciales que están estructuras por células de paredes, se caracterizan por estar compuestas por folíolos y las mismas tienden a presentar tricomas en su superficie (**Gnanasekaran y Basalingappa, 2018**).

Flores: es considerada como bisexual, contiene cinco pétalos que llegan a medir de 3 a 4 cm de longitud, quienes dan forma de una estrella a la corola en torno al pistilo. Las primeras en abrirse son aquellas que se ubican cerca a la base de la planta, llegando a abrirse de 2 a 3 flores y permaneciendo abiertas por el lapso de cuatro días, lo que permite el resultado de cada una de las inflorescencias en el mismo tiempo del pico de la floración, logrando la fertilización, producción del polen y su polinización (**Gnanasekaran y Basalingappa, 2018**).

Frutos: es una baya que abarca las semillas conocidas como semillas botánicas, esto ayuda a diferenciarlas del tubérculo-semilla, por lo común, mide entre 1 y 3 cm, recalando que su color puede demudar de verde oscuro-amarillento o castaño rojizo a violeta (**Gnanasekaran y Basalingappa, 2018**).

Tubérculos: varían en su tamaño, color y forma, se caracterizan por ser tallos modificados que asumen la función de órganos de reserva. Sus yemas permanecen latentes, es decir, en estado de dormancia hasta que se forman los estolones de donde se crea una planta nueva (**Gnanasekaran y Basalingappa, 2018**).

1.3.6. Requerimientos edafoclimáticos

Temperatura: la papa es considerada como una planta termo periódica, es decir, necesita una temperatura nocturna cuya variación debe estar entre 10 a 25 °C y diurna que oscila entre 16 a 22 °C. Las temperaturas más favorables para la papa en su estado de crecimiento y desarrollo son

de 13 y 18 °C, para su plantación necesita de una temperatura superior a los 7 °C y para la formación de los tubérculos de 16 a 20 °C. Una temperatura alta perjudica a la fotosíntesis, al igual que, los tubérculos no se desarrollan y quedan pequeños y esto favorece al desarrollo de las plagas y enfermedades (**Flores *et al.*, 2009**).

Luz: el cultivo de papa necesita 13 o hasta 16 horas luz para el desarrollo del área foliar, mientras que para inducir la tuberización requiere de 8 horas oscuridad. La luz a parte de tener un papel en la actividad fotosintética también ayuda en el proceso de floración y fructificación, por otro lado, cabe mencionar que la papa se desarrolla de mejor manera en días largos y cuando los días son cortos su crecimiento llega a disminuir (**Chila *et al.*, 2017**).

Agua: la papa requiere entre los 600 y 1000 mm por su ciclo de producción, considerando que, esta depende de la capacidad de almacenamiento de la variedad y de las condiciones, al igual que, de la temperatura. El autor menciona que cuando las plantas no perciben la humedad que necesitan para su desarrollo, en el momento de la tuberización no tendrán un rendimiento alto, por eso, hay que realizar riegos de manera continua y examinando los periodos de mayor necesidad de agua para el cultivo (**Olivares y Hernández, 2019**).

Suelo: el cultivo de papa no es tan exigente a condiciones edáficas. La papa responde bien a un pH que oscila entre 6 y 6,5, esta prefiere suelos francos arenosos, francos, semi-ligeros y ligeros, al igual que, suelos ricos en materia orgánica, sueltos profundos y bien drenados. Por otra parte, los terrenos pedregosos y compactados afectan a los órganos subterráneos de las plantas, resiste a la salinidad, lo que es considerada como una especie moderadamente tolerante (**Chila *et al.*, 2017**).

El empleo de microorganismos benéficos en el suelo ayuda a la retención de mayor cantidad de agua, incrementando el rendimiento de los cultivos en cuanto a la resistencia del estrés hídrico en suelos arenosos o en tiempos de sequía, favoreciendo las cargas iónicas del agua con la estructura física del suelo. Por otra parte, esta actividad reduce la porosidad y como consecuencia disminuye la actividad microbiana del suelo (**Morocho y Leiva, 2019**).

1.3.7. Plagas y enfermedades

Plagas

De acuerdo con **Elizondo *et al.* (2002)**, **González *et al.* (2005)**, **(Morales y Silva, 2007)** y **(Villanueva y Saldamando, 2013)**, en sus estudios realizados mencionan las principales plagas que atacan al cultivo de papa:

Gusano blanco (*Premnotrypes vorax* Hustache): su color característico es marrón oscuro, mide entre 8 a 10 mm de largo, sus larvas avanzan hasta lograr perforar los tubérculos de la papa, el gorgojo perfora los túneles de los mismos llevando a la pérdida del cultivo de papa.

Polilla de la Papa (*Phthorimaea operculella* Zeller): estas por lo general minan las hojas y sus larvas permanecen en lugares cálidos, mismas que agujeran los tubérculos.

Pulgilla Negra (*Epitrix* sp. Harris): estos escarabajos llegan a medir por lo general entre 2 a 3 mm, produciendo huecos menores de 3 mm de diámetro en el follaje de las hojas, sus larvas se alimentan de los tubérculos, raíces y estolones de las plantas.

Áfidos (*Myzus persicae* Sulzer.): estos insectos miden de 1 a 2 mm, su color característico es verde y su cuerpo completamente blando, son los responsables de formar colonias en el envés de las hojas, en brotes del tubérculo y partes internas de las plantas.

Trips (*Frankliniella* spp. Pergande.): sus ninfas son de color marrón, que producen manchas en el envés de las hojas de color plateadas.

Ácaros (*Tetranychus* spp. Koch.): estos se pueden visualizar mediante estereoscopio, son los causantes del daño celular de las hojas y la deformación de los brotes de los tubérculos.

Gusanos alambres (*Agriotes* spp. y *Elateridae*): estos gusanos miden 25 mm de longitud, tienen vida subterránea, sus cuerpos son caracterizados por ser delgados con patas pequeñas

torácicas, las larvas causan perforaciones en los tubérculos, recalando que no viven dentro de los mismos.

Enfermedades

Elizondo et al. (2002) y González et al. (2005), en sus estudios realizados detallan las principales enfermedades que atacan al cultivo de la papa en el Ecuador:

Tizón temprano (*Alternaria solani* (Cooke)): los principales síntomas que se puede observar en el cultivo de papa ante la presencia de dicha enfermedad es la aparición de pequeñas lesiones café oscuras y hundidas en las hojas, formación de anillos concéntricos en el tejido muerto, pudrición de los tubérculos y bajo la piel el daño es superficial con la pulpa corchosa, recalando que se presentan en la época de verano o periodos entre verano y durante el invierno.

Tizón tardío (*Phytophthora infestans* (Mont)): la planta presenta manchas acuosas de coloración café en hojas inferiores, mismas que van hasta los tallos y pecíolos, en los tallos existe un ennegrecimiento y en los tubérculos se presenta como una decoloración parda superficial. Esta enfermedad se adapta a temperaturas de 15 a 21°C con un alto nivel de humedad (mayor del 90%).

Verruga (*Synchytrium endobioticum* (Schilb)): se presenta como verrugas en los tallos, tubérculos y estolones de la papa, ocasionalmente en las flores y hojas. Es necesario evitar que esta enfermedad se produzca en suelos con alto nivel de humedad y temperaturas entre 12 a 24 °C.

Pudrición seca (*Fusarium spp.*): este tipo de enfermedad se da en campos infestados, su principal síntoma es la pudrición seca de los tubérculos que provoca su arrugamiento y estos se momifican.

1.3.8. Medio de cultivo y fitohormonas

Medio de cultivo

Murashige y Skoog (MS)

El medio de cultivo MS fue formulado en 1962 con el nombre de Murashige y Skoog, es el medio más utilizado en los cultivos *in vitro*, en su formulación contiene micronutrientes, macronutrientes, vitaminas y la relación entre amonio: nitrato 1: 2 ($\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$) (González *et al.*, 2012).

Tabla 3. Composición del medio de cultivo MS (1962).

COMPOSICIÓN DE MURASHIGE Y SKOOG			
INGREDIENTES	mg. L ⁻¹	INGREDIENTES	mg. L ⁻¹
MACRONUTRIENTES		VITAMINAS	
Nitrato de amonio	1.650	i-Inositol	100
Cloruro de calcio	440	Niacina	0.5
Sulfato de magnesio	370	Piridoxina-HCl	0.5
Fosfato de potasio	170	Tiamina-HCl	0.1
Nitrato de potasio	1.900	Glicinas	2
MICRONUTRIENTES			
Ácido bórico	6.2	Sulfato de manganeso	22.3
Cloruro de cobalto	0.025	Yoduro de potasio	0.83
Sulfato cúprico	0.025	Molibdato de sodio	0.25

Sulfato ferroso	27.8	Sulfato de zinc	8.6
		Na ² EDTA-2H ² O	37.2

Fuente: (González *et al.*, 2012)

Fitohormonas

Las fitohormonas son conocidas como los compuestos efectuados internamente por las plantas, cuya función principal es ejercida a nivel celular en pequeñas concentraciones. Entre las fitohormonas principales existen las: auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido salicílico, ácido abscísico, ácido jasmónico y sus derivados, poliaminas, etileno, brassinoesteroides y estrigolactonas (Alcantara *et al.*, 2019).

Citoquininas

Las citoquininas cumplen una función muy importante en el crecimiento de las plantas, ya que, estas tienen la capacidad de estimular la división celular, el desarrollo foto morfogénico vegetal, la multiplicación de brotes axilares e inhiben la senescencia de las hojas. Entre las principales citoquininas están: la Kinetina, 4-hidroxifeniletíl alcohol, Zeatina y la Bencilaminopurina (Rodríguez y Moreno, 2010).

Giberelinas

Las Giberelinas participan en el crecimiento de las plantas aumentando el desarrollo de los tejidos vegetales, estimulando la elongación celular en condiciones de oscuridad y luz, al igual que, contribuyendo en los procesos de iniciación floral. El ácido giberélico AG3 es el más utilizado en cuanto a las giberelinas (Alcantara *et al.*, 2019).

1.3.9. Cultivo *in vitro*

El cultivo de papa ha sido estudiado en condiciones *in vitro*, puesto que, al colocar segmentos nodales en medio de cultivo con la adición de fitohormonas que regulen el crecimiento,

llevan a cabo la micropropagación de plantas *in vitro* que al mantenerlas en condiciones adecuadas producen la formación de microtubérculos (**Castillo, 2004**).

1.3.9.1. Etapas del cultivo *in vitro*

Establecimiento

Para el establecimiento del cultivo *in vitro* **Nova et al. (2017)** tomaron segmentos de hojas, nudos y entrenudos jóvenes, los cuales fueron cultivados en medio de cultivo MS, con 2,0 g. L⁻¹ de Phytigel, 30 g. L⁻¹ de sacarosa y un pH de 5.8 con la combinación de diferentes hormonas tales como: Kinetina y el 2,4-D con las concentraciones de 1.5, 2.0, 2.5 y 3.5 mg. L⁻¹. Los explantes cultivados fueron incubados en oscuridad y a una temperatura de 21 °C, por el lapso de 24 días.

Multiplicación y enraizamiento de segmentos nodales

Para el desarrollo de las raíces y su multiplicación fueron colocados en medio del cultivo que contenía las siguientes auxinas: AIB y ANA con las diferentes concentraciones de 0.01, 0.05 y 0.1 mg. L⁻¹; o al igual que, sin reguladores de crecimiento por el lapso de 20 días para la determinación de la apariencia de las raíces en los segmentos nodales (**Araque et al., 2018**).

Microtuberización

Araque et al. (2018) en su investigación titulada “Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa” señalaron que se tomaron micro esquejes enraizados, mismos que, fueron sembrados en medio de cultivo MS en estado semisólido acompañado de diferentes concentraciones de 6-BAP (2.5, 5.0 y 12.0 mg. L⁻¹) y Kinetina (2.5 y 12.0 mg. L⁻¹) enriquecidos cada tratamiento con 8 % de sacarosa, por otra parte, los cultivos *in vitro* pueden estar sin reguladores de crecimiento en fotoperiodo de 16 horas de luz blanca fluorescente o también en completa oscuridad, todos estos a una temperatura de 24 °C por el lapso de 90 días.

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1. HIPÓTESIS

Mediante el análisis H₁ del porcentaje de composición de sales, tipos de citoquininas, ácido giberélico y porcentaje de sacarosa en el medio de cultivo MS semisólido se obtendrán microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola.

1.4.2. OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) en estado semisólido.

Objetivos específicos

1. Determinar la influencia de diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos.
2. Evaluar el efecto de citoquininas y sus concentraciones sobre la producción de microtubérculos.
3. Analizar el efecto del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.
4. Establecer la concentración de sacarosa que favorezca la producción de microtubérculos en el medio de cultivo MS.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento (ensayo)

El experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Ambato, situada en el sector de Querochaca, cantón Cevallos, provincia de Tungurahua.

2.2. Características del lugar

El clima es frío, con una temperatura de 15 °C en el sector de Querochaca ya que normalmente las lluvias son muy frecuentes; sin embargo, como proyecto para la obtención de microtubérculos de plantas *in vitro* de papa de la variedad Superchola, se efectuó en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UTA. Sus coordenadas geográficas son: 01° 24' 27'' de latitud Sur y 78° 35' 00'' de longitud Oeste.

2.3. Equipos y materiales

2.3.1. Equipos

- Autoclave (MIDMARK).
- pH metro de mesa (BANTE 900).
- Balanza analítica (OHAUS – Pioneer™).
- Cabina de flujo laminar (PURIFIERTM - MAGELLAN).

- Destilador de agua (DIRECT – Q / MILLOPONE).
- Refrigeradora (INDURAMA).
- Microondas (PANASONYC).
- Pie de REY (Universal Digital Serie 799).
- Micropipetas (THERMO SCIENTIFIC).
- Estufa (red LINE by BINDER).

2.3.2. Materiales

- Probetas de vidrio (50 ml, 100 ml).
- Cintas de chequeo de esterilización (CREMER).
- Vasos de precipitación de vidrio (50 ml, 500 ml).
- Tubos de ensayo de vidrio (150 mm * 20 mm).
- Matraz aforado de vidrio (100 ml).
- Cucharillas medidoras metálicas.
- Etiquetas adhesivas.
- Pinzas metálicas (MEDITEC 20 cm).
- Estantes metálicos y de vidrio.
- Fundas plásticas.
- Papel aluminio (DIAMOND).
- Placas metálicas.
- Hojas de bisturí N.º 23.
- Matraz Erlenmeyer de vidrio (250 ml, 500 ml, 1000 ml).
- Esferos (BIG).
- Pipetas plásticas pequeñas (1 ml).
- Puntas para micropipetas (0.5-5 ml).
- Mascarillas (Maibeijie TM).
- Bata quirúrgica.
- Gorros quirúrgicos.
- Zapatones.

- Marcadores permanentes (Sharpie).
- Bisturí (STAINLESS N°4).
- Agua desionizada.
- Hipoclorito de sodio a 5 % (ALL CLORO).
- Alcohol (70%).
- Jabón líquido.
- Detergente sólido (Deja).
- Mecheros de alcohol.

2.3.3. Reactivos

- Medio de cultivo MS (PhytoTech).
- Citoquininas: Kinetina (LOBA CHEMIE PVT.LTD) – 6-Bencilaminopurina (CAISSON).
- Ácido giberélico AG3 (LOBA CHEMIE).
- Sacarosa (Azúcar blanca, Valdez).
- Agar (SIGMA-ALDRICH).
- Hidróxido de sodio (LOBA CHEMIE).
- Ácido cítrico (SIGMA).

2.4. Factores en estudio

Ensayo 1.- Porcentaje de concentraciones de sales MS en el medio semisólido.

Ensayo 2.- Tipos de citoquininas y sus concentraciones.

Ensayo 3.- Tipo de ácido giberélico y sus concentraciones.

Ensayo 4.- Porcentaje de sacarosa en el medio MS semisólido.

2.5. Diseño experimental

Factor 1.- Porcentaje de concentraciones de sales MS en el medio semisólido.

Tabla 4. Porcentaje de concentraciones de sales MS en el medio semisólido.

T1- 100% de sales MS.
T2- 75% de sales MS.
T3- 50% de sales MS.
T4- 25% de sales MS.
Control Medio de cultivo sin sales MS. (agua + agente gelificante)

Diseño experimental completamente aleatorizado:

Porcentaje de medio MS sobre la producción de microtubérculos (4+1 en 10 repeticiones), es decir, 4 tratamientos más un control.

Tabla 5. Diseño de las diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos.

REPETICIONES										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
T1										
T2										
T3										
T4										
C										

Factor 2.- Tipos de citoquininas y sus concentraciones.

Tabla 6. Tipos de citoquininas y sus concentraciones

Kinetina	T1 2 mg. L ⁻¹
	T2 4 mg. L ⁻¹
	T3 6 mg. L ⁻¹
	Control- Sin Kinetina

	T1 2,3 mg. L ⁻¹
6-Bencilaminopurina	T2 2,5 mg. L ⁻¹
	T3 2,7 mg. L ⁻¹
	Control- Sin Bencilaminopurina

Diseño bifactorial:

Para determinar la influencia de diferentes concentraciones de Kinetina sobre la producción de microtubérculos se utilizaron los siguientes tratamientos (6+1 en 5 repeticiones), es decir, 6 tratamientos más un control.

El ensayo tuvo la finalidad de evaluar la influencia de las citoquininas sobre la producción de microtubérculos, con el mejor porcentaje del medio MS del ensayo número 1.

1. MS + 2 mg. L⁻¹ KIN.
2. MS + 4 mg. L⁻¹ KIN.
3. MS + 6 mg. L⁻¹ KIN.
4. MS + 2,3 mg. L⁻¹ 6-BAP.
5. MS + 2,5 mg. L⁻¹ 6-BAP.
6. MS + 2,7 mg. L⁻¹ 6-BAP.

Control MS sin citoquininas

Tabla 7. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones de citoquininas sobre la producción de microtubérculos.

REPETICIONES					
	I	II	III	IV	V
T1					
T2					
T3					
T4					
T5					
T6					
C					

Factor 3.- Tipo de ácido giberélico y sus concentraciones.

Tabla 8. Tipo de ácido giberélico y sus concentraciones

	T1 0,2 mg. L ⁻¹
AG3	T2 0,4 mg. L ⁻¹
	T3 0,6 mg. L ⁻¹
	Control- Sin ácido giberélico

Diseño completamente aleatorizado:

Concentraciones del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos (3+1 en 5 repeticiones), es decir, 3 tratamientos más un control.

El ensayo tiene la finalidad de evaluar la influencia del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos, con el mejor porcentaje del medio MS del ensayo número 1.

Tabla 9. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.

REPETICIONES					
	I	II	III	IV	V
T1					
T2					
T3					
C					

Factor 4.- Porcentaje de sacarosa en el medio MS semisólido.

Tabla 10. Porcentaje de sacarosa en el medio MS semisólido

	T1 6 %
Sacarosa	T2 8 %
	T3 10 %
	Control- Sin Sacarosa

Diseño completamente aleatorizado:

Porcentaje de sacarosa sobre la producción de microtubérculos (3+1 en 5 repeticiones), es decir, 3 tratamientos más un control.

Tabla 11. Representación del diseño de experimento correspondiente a las diferentes concentraciones de sacarosa sobre la producción de microtubérculos.

REPETICIONES					
	I	II	III	IV	V
T1					
T2					
T3					
C					

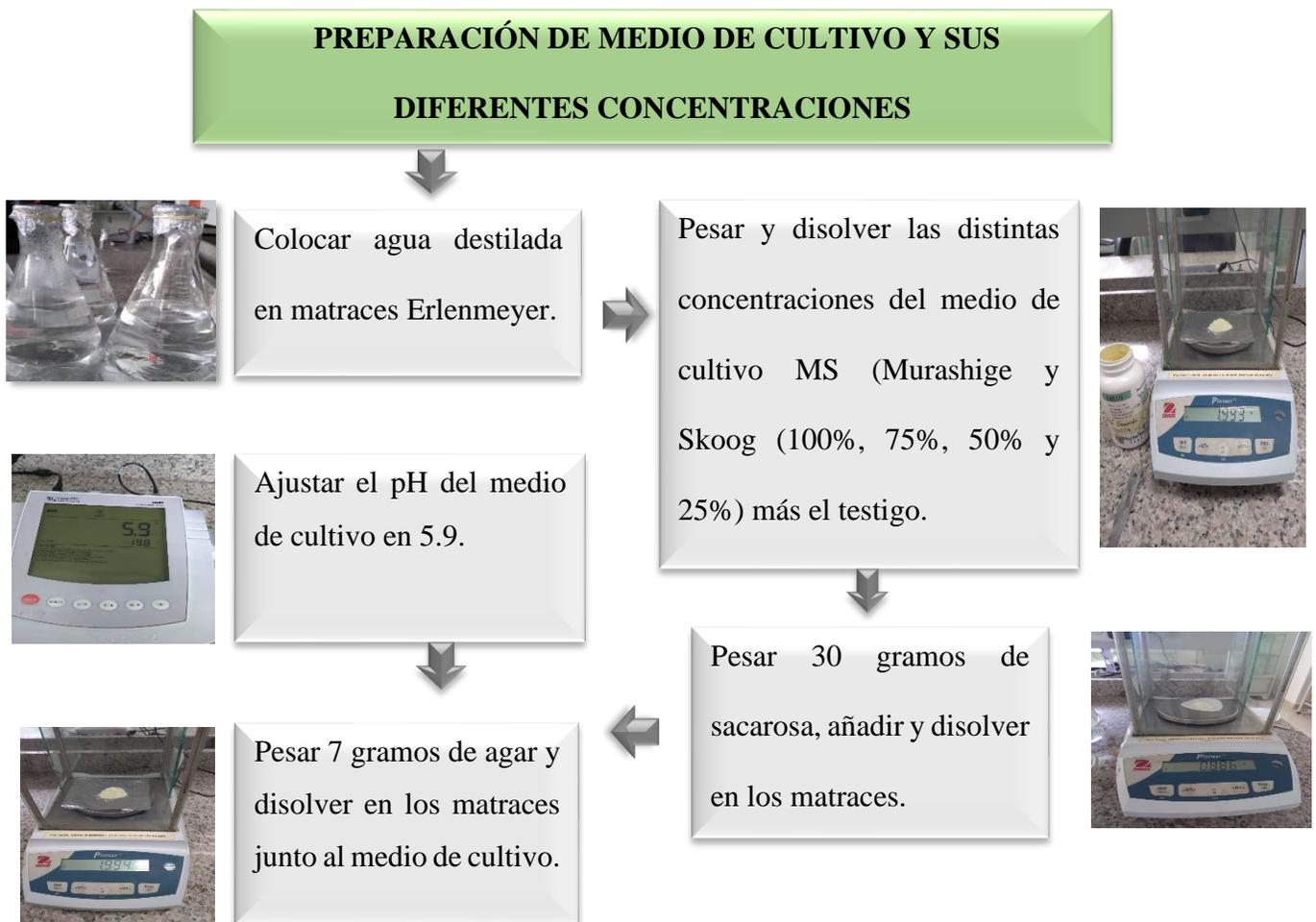
2.6. Manejo del experimento

Localización del estudio

El experimento se realizó en el laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

2.6.1. Ensayo N° 1. Analizar el efecto de sales MS sobre la producción de microtubérculos.

Mediante el montaje de este ensayo se llegó a conocer el efecto que tiene las diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos de *S. tuberosum* L. Var Superchola.





Calentar los medios por el lapso de 10 minutos en el microondas para que toda la mezcla se homogenice de mejor manera.



Dispensar el medio de cultivo en los tubos de ensayo, cada tubo con 10 ml, cubrir con papel aluminio y ajustarlos con ligas.



Autoclavar los tubos de ensayo por el lapso de 40 minutos a 110 °C.



Retirar los tubos de ensayo y transferirlos a la cámara de flujo para su respectiva siembra.



Figura 1. Preparación del medio de cultivo y sus diferentes concentraciones.

MANEJO DE ENSAYO EN CÁMARA DE FLUJO LAMINAR



Tomar todos los materiales y esterilizarlos en la autoclave por el lapso de 40 minutos a 110 °C: mango del bisturí, frascos de vidrio, pinzas, agua destilada, placa metálica y cuadros de papel aluminio.



Desinfectar la cámara de flujo con el alcohol al 70 %, al igual que, mecheros de alcohol, encendedores, ligas, hojas del bisturí, tubos de ensayo con los medios de cultivo, atomizadores con alcohol, recipiente plástico e insertar en la cámara de flujo laminar.



Encender la luz UV por el lapso de 30 minutos de la cámara de flujo laminar y después encender los mecheros de alcohol.



Tomar los frascos de vidrio y llenar 1 frasco con alcohol y 2 frascos con agua destilada, retirar el papel aluminio de los materiales y proceder a flamearlos.



Flamear el bisturí y la pinza en los mecheros de alcohol, proceder a enfriar en el agua y con la ayuda de la pinza sacar la planta *in vitro* del frasco para cortar con el bisturí los segmentos nodales.



Tomar cada tubo de ensayo y flamear la boca del mismo en el mechero, sembrar los explantes con mucha precaución en el medio de cultivo, flamear el papel de aluminio, tapar y ajustar con ligas cada tubo de ensayo.



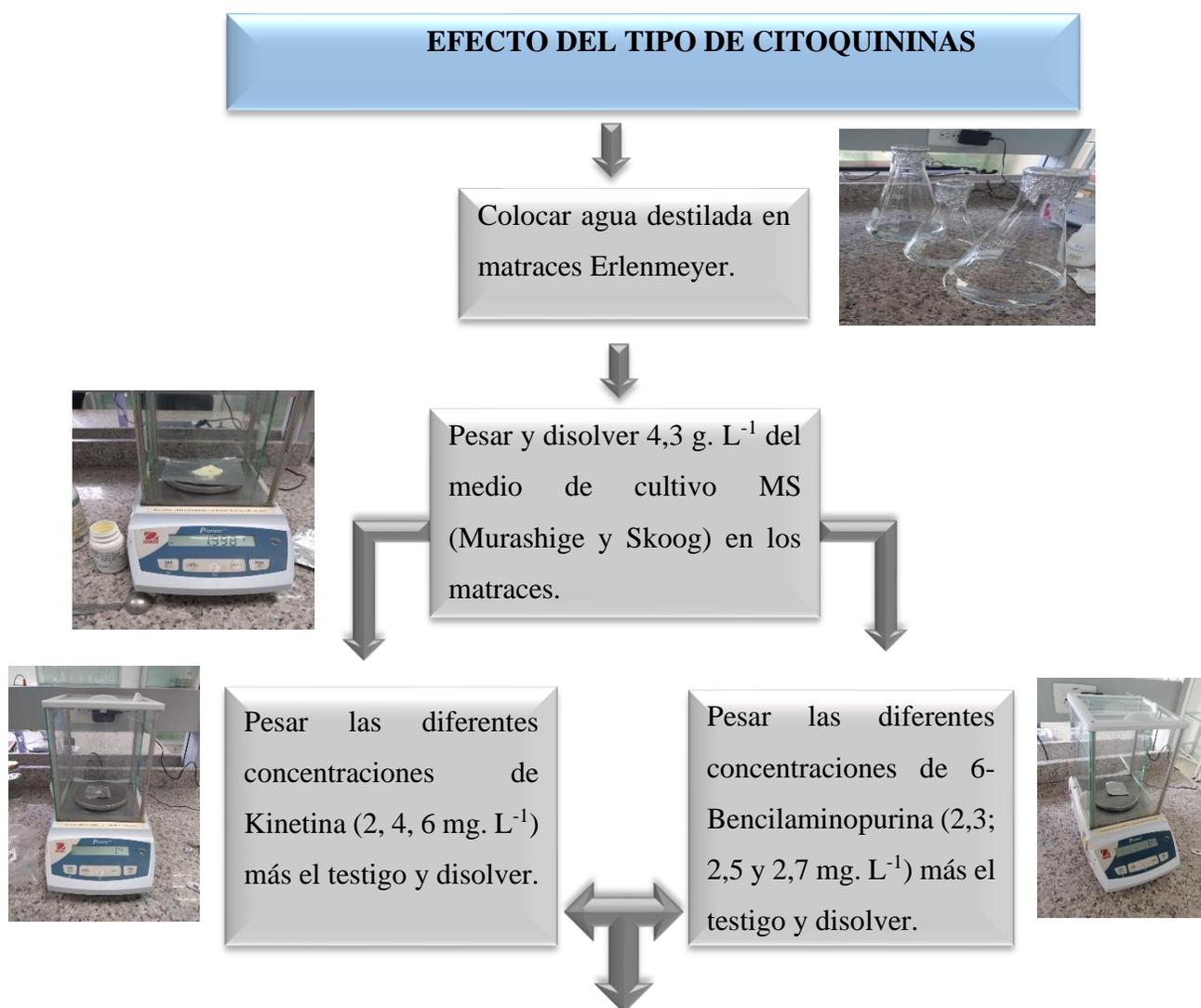


Transportar las rejillas con los tubos de ensayo sembrados al área de transferencia con luz blanca fluorescente con una temperatura de 24 °C.



Figura 2. Manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar.

2.6.2. Ensayo N° 2. Evaluar el efecto del tipo de citoquininas y sus concentraciones sobre la producción de microtubérculos.





Pesar 30 gramos de sacarosa, añadir y disolver en los matraces. Ajustar el pH del medio de cultivo a 5.9.



Pesar 7 gramos de agar y disolver en los matraces junto al medio de cultivo.



Calentar los medios por el lapso de 10 minutos en el microondas para que toda la mezcla se homogenice de mejor manera.



Dispensar el medio de cultivo en los tubos de ensayo, cada tubo con 10 ml, cubrir con papel aluminio y ajustarlos con ligas.



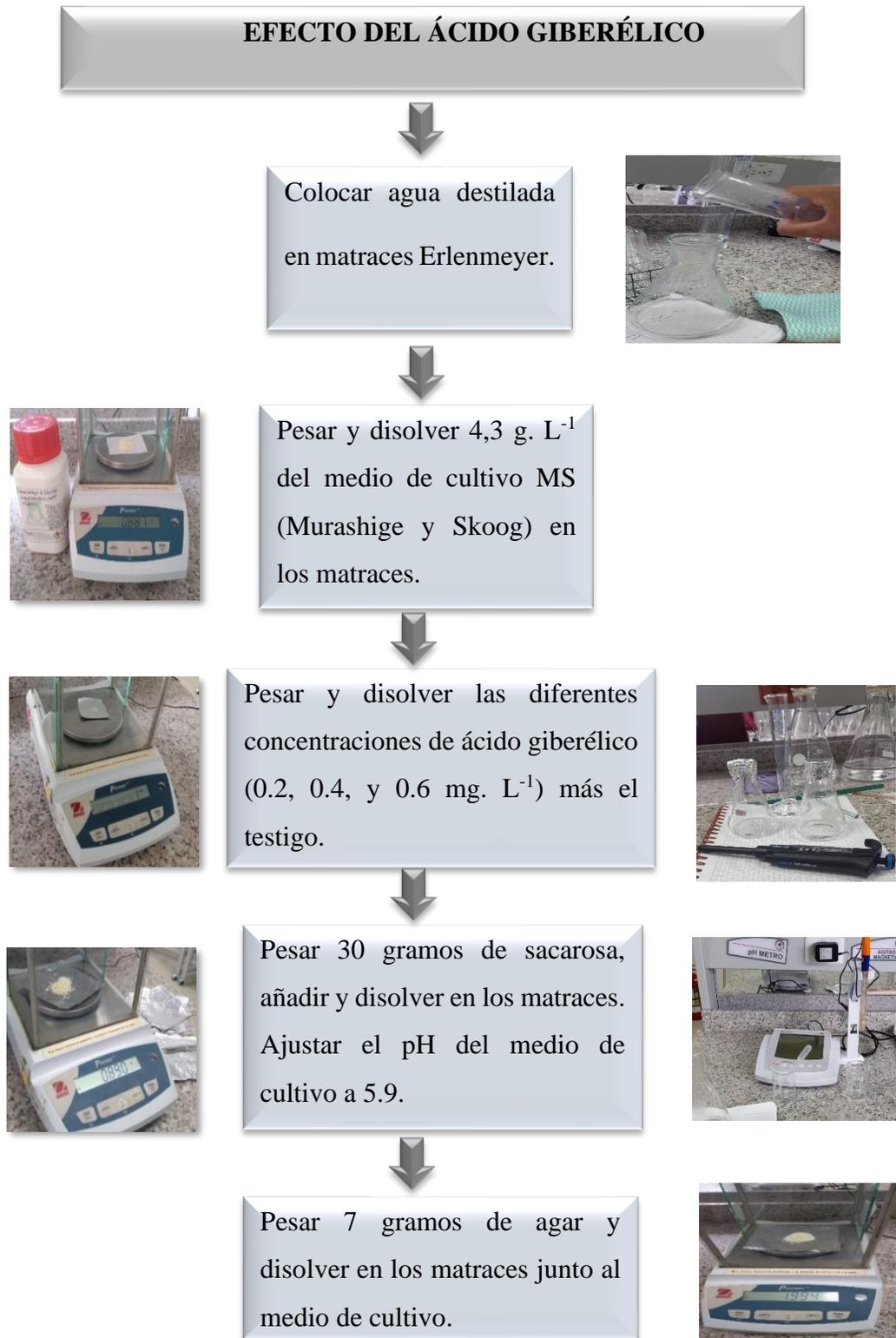
Autoclavar los tubos de ensayo por el lapso de 40 minutos a 110 °C.



Retirar los tubos de ensayo y colocarlos a la cámara de flujo para su respectiva siembra.

Figura 3. Efecto del tipo de citoquininas.

2.6.3 Ensayo N° 3. Analizar el efecto del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.





Calentar los medios durante 10 minutos en el microondas para que toda la mezcla se homogenice de mejor manera.



Dispensar el medio de cultivo en los tubos de ensayo, cada tubo con 10 ml, cubrir con papel aluminio y ajustarlos con ligas.



Autoclavar los tubos de ensayo por el lapso de 40 minutos a 110 °C.

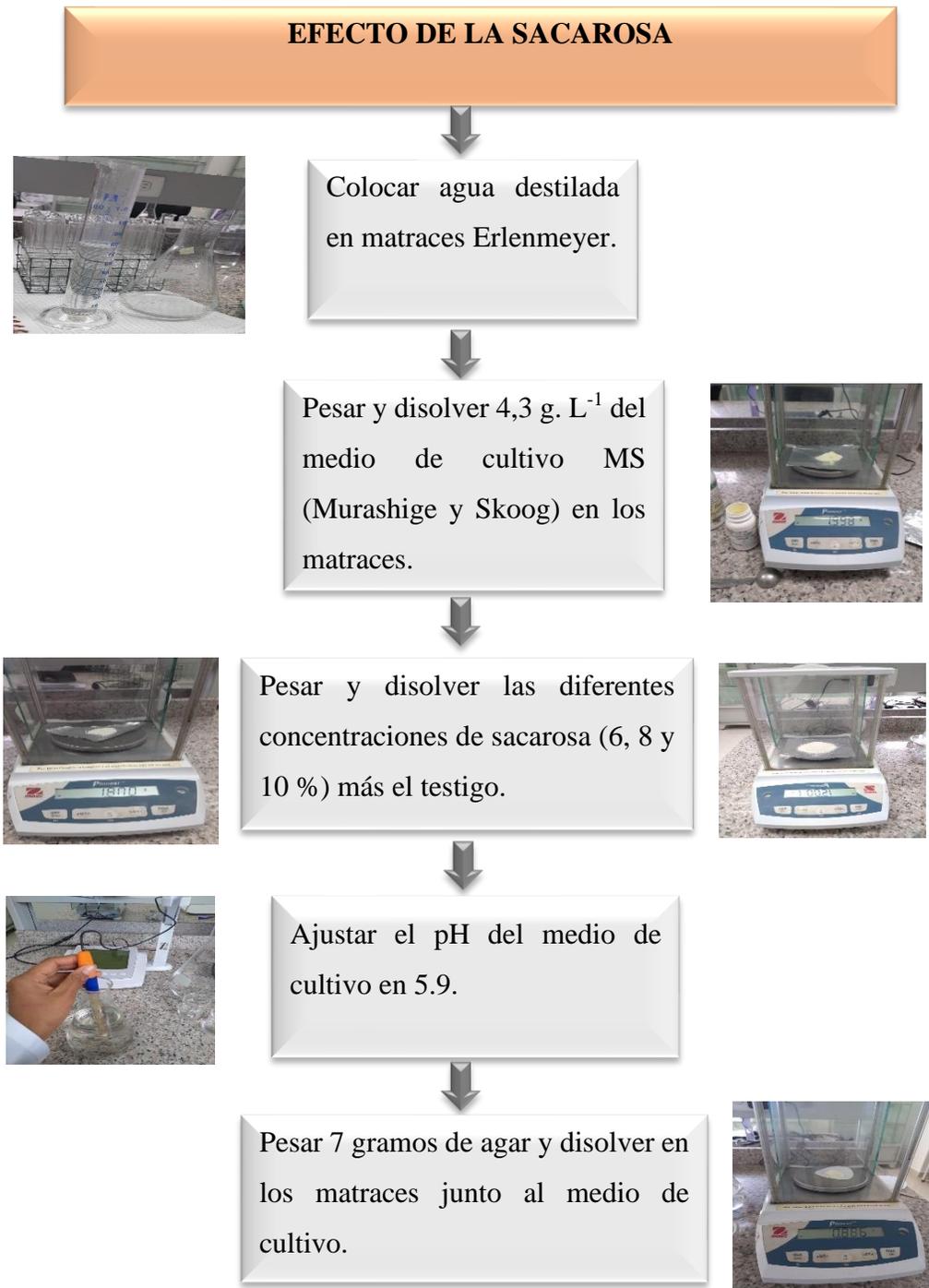


Retirar los tubos de ensayo y colocarlos a la cámara de flujo para su respectiva siembra.



Figura 4. Efecto del ácido giberélico.

2.6.4. Ensayo N° 4. Establecer la concentración de sacarosa que favorezca la producción de microtubérculos en el medio de cultivo MS.





Calentar los medios durante 10 minutos en el microondas para que toda la mezcla se homogenice de mejor manera.



Dispensar el medio de cultivo en los tubos de ensayo, cada tubo con 10 ml, cubrir con papel aluminio y ajustarlos con ligas.



Autoclavar los tubos de ensayo durante 40 minutos a 110 °C.



Retirar los tubos de ensayo y transferirlos a la cámara de flujo para su respectiva siembra.



Figura 5. Efecto de la sacarosa.

2.7. Variables respuesta

1. Altura de la planta (cm).
2. Número de hojas por planta.
3. Número de nudos por planta.
4. Número de microtubérculos por planta.
5. Determinar la masa fresca (mg).
6. Determinar la masa seca (mg).
7. Relación masa seca/masa fresca.
8. Diámetro de microtubérculos (mm).
9. Longitud de los microtubérculos (mm).
10. Número de yemas por microtubérculo.

2.8. Procesamiento de la información

Los datos de las evaluaciones de cada experimento fueron registrados en un cuaderno y en Excel. Posteriormente 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 con los requerimientos de normalidad ni homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con la prueba U Mann Whitney. Se fijó un nivel de significación del 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS en el medio semisólido.

3.1.1. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS sobre la producción de microtubérculos.

A los 7 días de la influencia de la concentración de sales MS sobre la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola al usar el 25, 50, 75 y 100 % de sales MS se incrementó el número de nudos, número de hojas y altura de la planta (**Tabla 12 y Figura 6**).

A los 14 días se observó que la altura de las plantas se incrementó con las concentraciones del 50, 75 y 100 % de sales MS. Por otra parte, a excepción de la concentración del 50 % de sales MS, el resto incrementaron el número de hojas. En cuanto al número de nudos las sales MS en todas sus concentraciones mostraron un incremento respecto al control (**Tabla 12 y Figura 6**).

En la evaluación correspondiente a los 21 y 28 días las sales MS en todas sus concentraciones mostraron un mayor número de nudos respecto al control, en cuanto al número de hojas a excepción de la concentración del 50 % de sales MS, el resto obtuvieron un valor mayor para esta variable. Sin embargo, la mayor altura de planta se observó en los tratamientos con 75 y 100 % de sales MS (**Tabla 12 y Figura 6**).

Tabla 12. Influencia de diferentes concentraciones de sales MS sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

TRATAMIENTOS	ALTURA DE PLANTA (cm)		NÚMERO DE HOJAS		NÚMERO DE NUDOS		
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	
7 días	100 % de sales MS	1,3	29,2 a	3,0	30,0 a	1,8	27,1 a
	75 % de sales MS	1,9	31,8 a	1,8	22,8 ab	2,1	28,2 a
	50 % de sales MS	0,6	20,9 a	1,5	23,2 a	1,4	22,7 a
	25 % de sales MS	0,5	16,7 ab	1,6	23,2 a	1,2	20,1 ab
	Control sin sales MS	0,3	11,7 b	0,4	10,8 b	0,5	12,2 b
14 días	100 % de sales MS	4,9	29,5 a	5,8	31,0 a	4,8	25,8 a
	75 % de sales MS	5,6	32,0 a	5,7	31,2 a	5,5	28,1 a
	50 % de sales MS	3,4	22,6 a	3,6	20,5 b	4,5	23,0 a
	25 % de sales MS	3,2	21,0 b	4,1	22,5 b	5,2	28,3 a
	Control sin sales MS	0,6	5,7 c	0,6	5,6 c	1,8	5,8 b
21 días	100 % de sales MS	6,6	29,1 a	6,6	30,3 a	5,7	26,6 a
	75 % de sales MS	7,6	31,9 a	7,1	30,7 a	6,2	28,9 a
	50 % de sales MS	4,7	21,7 b	5,0	19,3 b	5,3	23,8 a
	25 % de sales MS	5,1	23,0 b	6,2	25,8 ab	5,7	26,5 a
	Control sin sales MS	0,7	5,3 c	1,1	5,0 c	2,5	5,2 b
28 días	100 % de sales MS	7,6	29,4 a	7,3	30,0 a	6,6	25,7 a
	75 % de sales MS	9,0	32,4 a	8,0	31,5 a	7,5	31,1 a
	50 % de sales MS	5,8	21,7 b	5,6	19,1 b	6,1	22,6 a
	25 % de sales MS	6,0	22,4 b	7,0	25,8 ab	6,7	26,9 a
	Control sin sales MS	0,9	5,1 c	1,2	5,0 c	2,7	5,1 b

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 $p < 0,05$.

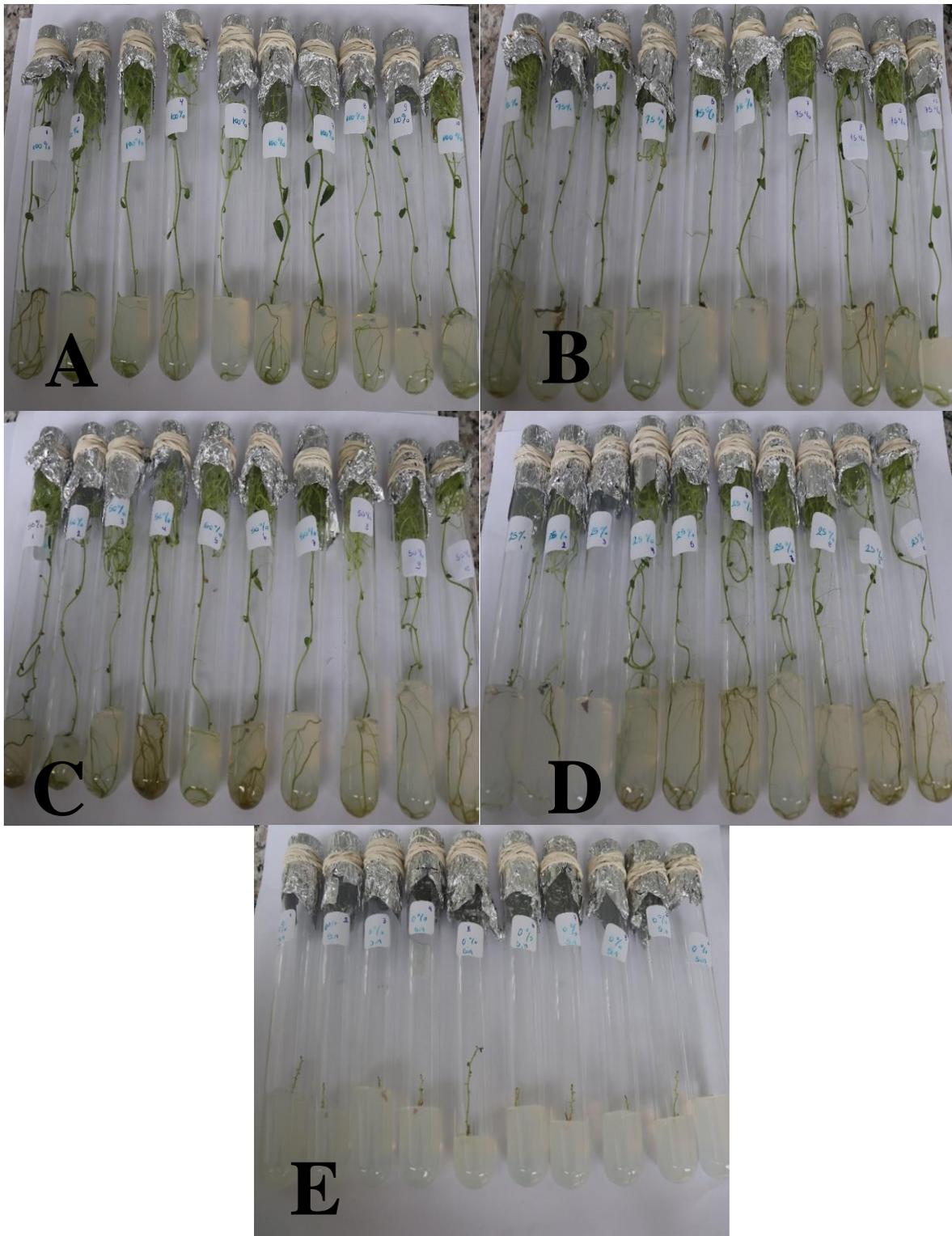


Figura 6. Segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Superchola establecidos *in vitro* con diferentes concentraciones de sales MS al 100% (A), 75% (B), 50% (C), 25% (D) y sin sales de medio MS a los 28 días.

Ojeda et al. (2014) en su estudio determinaron que para el crecimiento de vitroplantas extrajeron segmentos nodales de las variedades del Clon 393193-16 y Kennebec, mismas que fueron sembradas en el medio de cultivo MS en 15 repeticiones. En la variedad Kennebec la altura de las plantas fueron mayores con una cifra de 7.1 cm a diferencia de la variedad Clon que tuvo una cifra de 6.2, en cuanto al número de hojas y número de nudos ambas variedades tuvieron el mismo número de cifras tales como: 6,03 nudos y 6,04 hojas.

Con los resultados obtenidos en esta investigación se confirmó que las concentraciones en cuanto a la altura de las plantas, número de hojas y número de nudos fueron mayores a la investigación realiza por **(Ojeda et al. 2014)**.

Según **Maradiaga et al. (2016)** en su ensayo se observaron que al colocar segmentos nodales en medio de cultivo MS para la fase de multiplicación se obtuvieron un mayor número de brotes y hojas por cada planta. Para ello, en su estudio añadieron el medio de cultivo con 1 mg. L⁻¹ de 6-BAP + 0.10 mg. L⁻¹ de AG3 en el cultivar Burren, mismas que favorecieron el crecimiento e incrementaron del número de hojas y tallos de las plantas para la futura formación de microtubérculos con mayor peso y dimensiones, ya que, sin reguladores de crecimiento la microtuberización no puede llevarse a cabo.

Fernández et al. (2013) manifestaron que en su experimento para la micorrización *in vitro* de la papa con el medio de cultivo MS no obtuvieron la respuesta esperada, puesto que las plantas de papa mostraron un crecimiento reducido en el sistema radical y aéreo, al igual presentaron tallos delgados, pocas raíces y hojas muy pequeñas.

3.2. Efecto de citoquininas sobre la producción de microtubérculos.

3.2.1 Efecto de la Kinetina sobre la producción de microtubérculos.

En las evaluaciones realizadas desde los 7, 14 y 21 días no se observó influencia de la Kinetina y sus concentraciones sobre la altura de la planta, número de hojas y número de nudos.

Sin embargo, en las plantas sin Kinetina a los 28 días se incrementó la altura de la planta (**Tabla 13 y Figura 7**).

Tabla 13. Influencia de diferentes concentraciones de Kinetina sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

TRATAMIENTOS		ALTURA DE PLANTA (cm)		NÚMERO DE HOJAS		NÚMERO DE NUDOS	
		\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
7 días	Kinetina 2mg.L ⁻¹	0,6	12,2	0,6	9,7	0,6	9,9
	Kinetina 4mg.L ⁻¹	0,4	7,7	0,8	11,6	0,6	9,9
	Kinetina 6mg.L ⁻¹	0,4	8,0	0,4	7,8	0,8	11,1
	MS sin kinetina	1,4	14,1	1,2	12,9	0,8	11,1
14 días	Kinetina 2mg.L ⁻¹	1,7	12,0	1,0	10,4	1,8	10,0
	Kinetina 4mg.L ⁻¹	0,8	7,6	1,0	10,5	1,2	7,0
	Kinetina 6mg.L ⁻¹	0,8	8,1	1,0	10,5	1,8	10,4
	MS sin kinetina	3,9	14,3	1,2	10,6	2,6	14,6
21 días	Kinetina 2mg.L ⁻¹	2,7	10,3	1,6	9,4	2,6	10,2
	Kinetina 4mg.L ⁻¹	1,2	7,5	1,8	11,2	1,8	5,9
	Kinetina 6mg.L ⁻¹	1,3	7,7	1,6	9,4	2,6	10,7
	MS sin kinetina	4,9	16,5	2	12,0	3,6	15,2
28 días	Kinetina 2mg.L ⁻¹	2,8	8,8 b	2,2	6,8	3,4	11,5
	Kinetina 4mg.L ⁻¹	1,6	7,3 b	2,6	9,0	2,8	7,4
	Kinetina 6mg.L ⁻¹	1,9	8,8 b	3,2	13,1	3,0	8,7
	MS sin kinetina	6,5	17,1 a	3,6	13,1	4,0	14,4

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 $p < 0,05$.

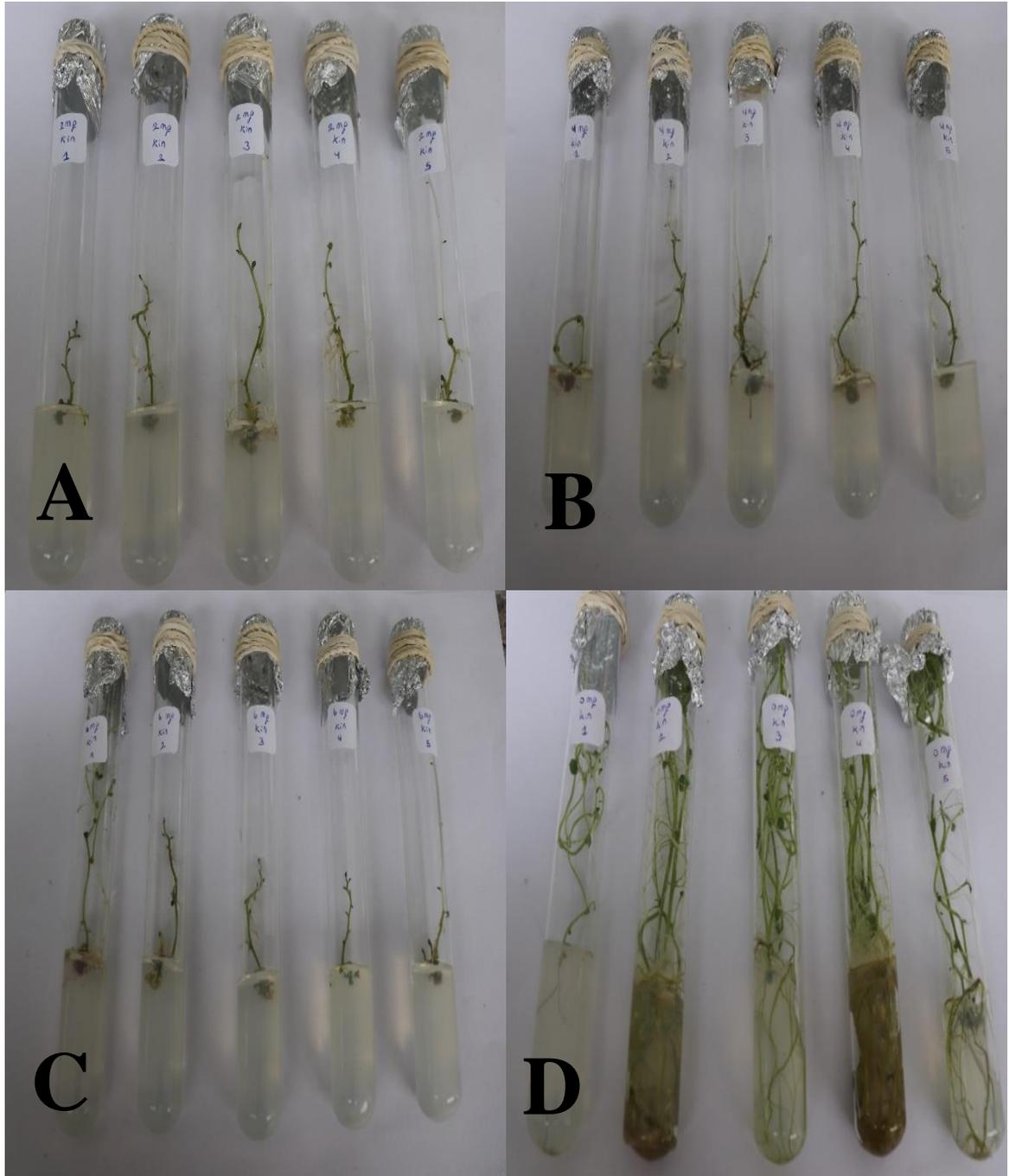


Figura 7. Segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Superchola establecidas *in vitro* con diferentes concentraciones de Kinetina al 2 mg. L⁻¹ (A), 4 mg. L⁻¹ (B), 6 mg. L⁻¹ (C) y sin Kinetina (D) a los 28 días.

Según **Priyadarshani et al. (2018)** en su ensayo observaron que al utilizar medios de cultivo con diferentes concentraciones de Kinetina y 6-BAP, los mejores resultados para la microtuberización y multiplicación de brotes de la variedad Kifri Pukhraj, fueron suplementados con 0,25 mg. L⁻¹ BAP, por el cual, los autores antes mencionados recomendaron que es mejor utilizar 6-BAP en lugar de Kinetina para la proliferación de brotes, micropropagación y microtuberización, respecto a las variables en estudio los segmentos nodales sembrados con la Kinetina no produjeron microtubérculos.

Según **Nova et al. (2017)** en su investigación analizaron el efecto de Kinetina y 2,4-D sobre la inducción de callos, utilizando 2,0 g. L⁻¹ de Phytigel y 30 g. L⁻¹ de sacarosa en medio de cultivo MS por el lapso de 24 días, dando como resultados positivos la concentración de 2.0 mg. L⁻¹ de 2,4-D para la formación de callos (90%), organogénesis (6.6%) y la fenolización (0%), por otra parte, los resultados con la Kinetina no tuvieron efectos favorables sobre la proliferación celular y la microtuberización.

3.2.2 Efecto de 6-bencilaminopurina sobre la producción de microtubérculos.

A los 7 días cuando se utilizaron 2.3 mg. L⁻¹ y cuando no se aplicó 6-BAP se incrementó la altura de la planta, sin mostrar diferencias con el tratamiento de 2.7 mg. L⁻¹ de 6-BAP. Sin embargo, no se observó efecto sobre el número de hojas y número de nudos (**Tabla 14 y Figura 8**).

A los 14 días no se observó efecto del 6-BAP sobre la altura, número de hojas ni número de nudos, mientras que a los 21 y 28 días en el control se incrementó el número de hojas respecto a los tratamientos que contenían 2.3 y 2.5 mg. L⁻¹ de 6-BAP. Sin embargo, no se observó efecto sobre la altura de la planta ni el número de nudos (**Tabla 14 y Figura 8**).

Tabla 14. Influencia de diferentes concentraciones de 6-Bencilaminopurina sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

TRATAMIENTOS	ALTURA DE PLANTA (cm)		NÚMERO DE HOJAS		NÚMERO DE NUDOS		
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	
7 días	6-BAP 2.3 mg. L ⁻¹	1,0	14,3 a	0,6	10,5	1,2	11,5
	6-BAP 2.5 mg. L ⁻¹	0,3	3,3 b	0,4	8,5	0,6	7,4
	6-BAP 2.7 mg. L ⁻¹	0,7	10,3 ab	0,8	12,5	1,2	11,6
	MS sin 6-BAP	1,1	14,1 a	0,6	10,5	1,2	11,5
14 días	6-BAP 2.3 mg. L ⁻¹	1,7	9,0	1,0	7,1	3,0	13,6 a
	6-BAP 2.5 mg. L ⁻¹	1,7	11,3	1,6	11,6	1,2	4,7 b
	6-BAP 2.7 mg. L ⁻¹	1,5	8,1	1,2	8,2	2,2	10,2 ab
	MS sin 6-BAP	3,4	13,6	2,2	15,1	3,2	13,5 a
21 días	6-BAP 2.3 mg. L ⁻¹	2,1	6,7	2,4	10,7 ab	3,6	12,6 a
	6-BAP 2.5 mg. L ⁻¹	3,3	13,4	2,4	10,7 ab	1,8	4,2
	6-BAP 2.7 mg. L ⁻¹	2,4	7,4	1,6	5,1 b	3,2	10,5 ab
	MS sin 6-BAP	6,1	14,5	3,2	15,5 a	4,0	14,7 a
28 días	6-BAP 2.3 mg. L ⁻¹	2,6	5,6	3,0	6,9 b	4,4	14,4 a
	6-BAP 2.5 mg. L ⁻¹	4,4	12,8	3,4	9,5 b	2,8	5,6 b
	6-BAP 2.7 mg. L ⁻¹	3,3	8,8	3,2	8,0 b	3,2	7,6 b
	MS sin 6-BAP	6,9	14,8	5,0	17,6 a	4,4	14,4 a

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 $p < 0,05$.

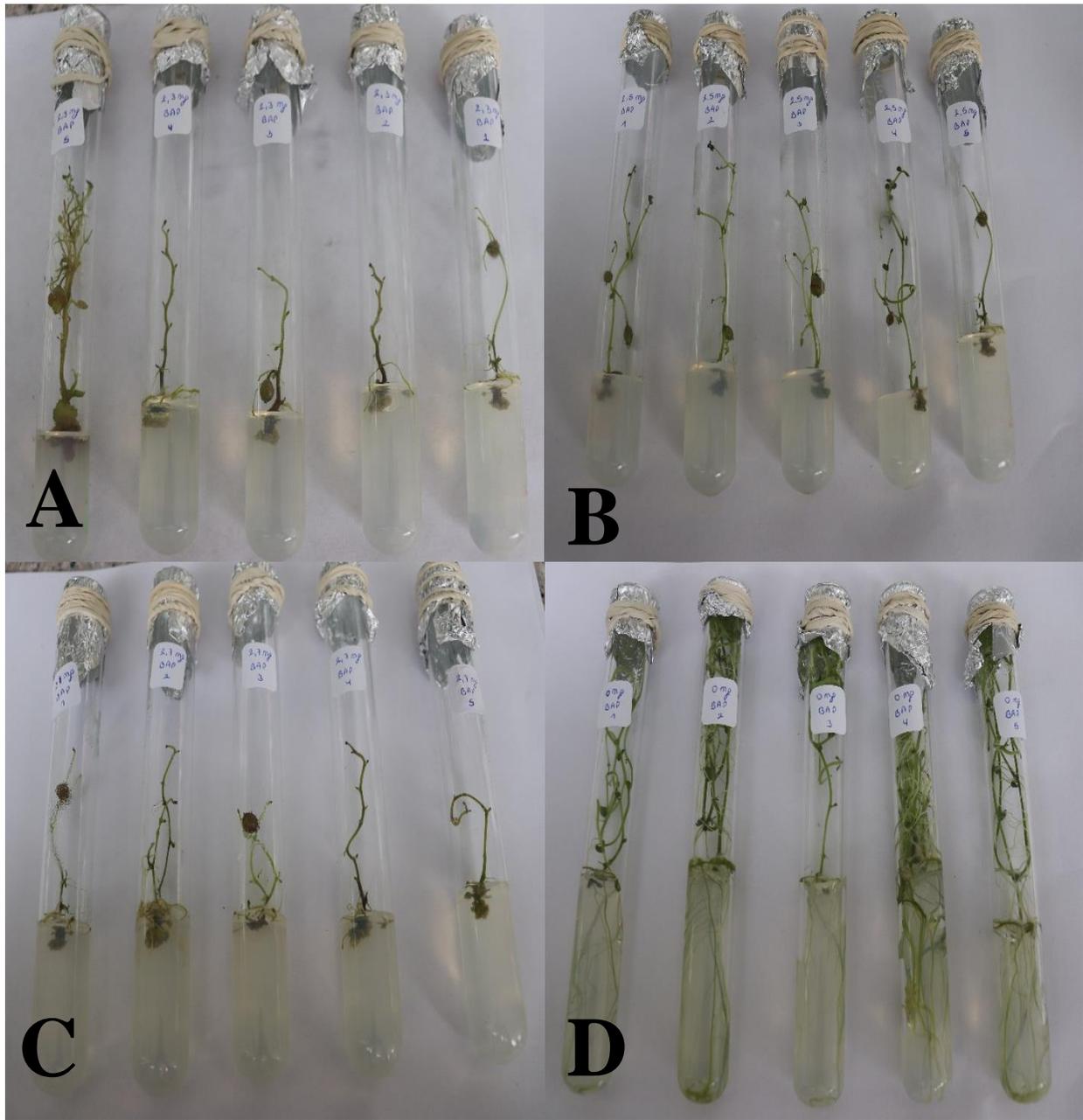


Figura 8. Segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Superchola establecidos *in vitro* con diferentes concentraciones de 6-BAP: 2.3 mg. L⁻¹ (A), 2.5 mg. L⁻¹ (B), 2.7 mg. L⁻¹ y sin 6-BAP a los 28 días.

En el trabajo realizado por **Lázaro *et al.* (2021)** señalaron que al utilizar 6-BAP Y AG3 en medio de cultivo MS para la multiplicación *in vitro* utilizaron las siguientes concentraciones: 15 g. L⁻¹ de sacarosa, 0.5 y 1 mg. L⁻¹ de 6-BAP Y AG3, 6 g. L⁻¹ de agar y un pH ajustado a 5.8, logrando el crecimiento de la planta desde la primera semana, al igual que la formación de hojas, nudos y raíces y en la segunda semana obtuvieron mayor vigorosidad de los explantes. Lo mencionado por estos autores pudo ser corroborado con los resultados obtenidos, a los 7 días se incrementó la altura de las plantas con la concentración de 2.3 mg. L⁻¹ y el control de 6-BAP, a los 21 y 28 días las plantas obtuvieron un mayor número de hojas y nudos.

3.2.3 Producción de microtubérculos con el efecto de 6-bencilaminopurina

En la evaluación correspondiente a los 52 y 65 días de la influencia de la concentración del 6-BAP sobre la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola no se observaron diferencias estadísticas significativas en el número de microtubérculos obtenidos.

A los 75 y 90 días se mostraron que con las concentraciones de 2.3, 2.5 y 2.7 mg. L⁻¹ hubo un mayor incremento del número de microtubérculos respecto al control (**Tabla 15**).

Tabla 15. Influencia de diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 52, 65, 75 y 90 días.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS POR PLANTA							
	52 días		65 días		75 días		90 días	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango Promedio	\bar{x}	Rango Promedio
6-BAP 2.3 mg. L⁻¹	0,0	9,50	0,4	10,50	0,6	10,70 ab	0,6	10,70 ab
6-BAP 2.5 mg. L⁻¹	0,2	11,50	0,6	12,50	1,2	15,60 a	1,2	15,60 a
6-BAP 2.7 mg. L⁻¹	0,2	11,50	0,6	12,50	0,6	10,70 ab	0,6	10,70 ab
MS sin 6-BAP	0,0	9,50	0,0	6,50	0,0	5,00 b	0,0	5,00 b

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 $p < 0,05$.

Araque et al. (2018) en su investigación manifestaron que al utilizar 6-Bencilaminopurina favoreció la microtuberización *in vitro*, al colocar 2.5 mg. L⁻¹ de 6-BAP en medio MS obtuvieron un mayor número de microtubérculos con un total de 47 microtubérculos con un peso promedio de 143.09 mg y un diámetro de 36.17 mm en la variedad Parda Pastusa y en la variedad Diacol Capiro se obtuvo un total de 49 microtubérculos con un peso promedio de 97 mg y 22.15 mm de diámetro. Coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación, el mayor número de microtubérculos, número de yemas y la mejor relación de masa fresca/ masa seca se obtuvo con la concentración de 2.5 mg. L⁻¹ de 6-BAP a los 75 y 90 días.

En la evaluación correspondiente a los 90 días de la influencia de la concentración de 6-BAP sobre la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola, al utilizar 2.5 mg. L⁻¹ de 6-BAP se incrementó el número de yemas, aunque estadísticamente no definiera del uso de 2.3 y 2.7 mg. L⁻¹ pero si del control. Así mismo, con 2.5 mg. L⁻¹ de 6-BAP se incrementó la relación masa fresca/masa seca (**Tabla 16**).

Tabla 16. Datos estadísticos de la producción de microtubérculos en el efecto de 6-BAP en relación del diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO (mm)		LONGITUD (mm)		NÚMERO DE YEMAS		MASA FRESCA (mg)		MASA SECA (mg)		RELACIÓN MASA FRESCA/MASA SECA (%)	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
6-BAP 2.3 mg. L⁻¹	2,51	11,50	3,70	12,10	2,0	11,40 ab	29,0	11,60	6,2	11,80	302,0	10,20 b
6-BAP 2.5 mg. L⁻¹	3,70	13,50	5,31	13,80	3,0	14,90 a	40,5	14,00	6,7	13,90	597,0	17,20 a
6-BAP 2.7 mg. L⁻¹	2,65	12,00	3,35	11,10	1,6	10,70 ab	33,2	11,40	7,2	11,30	267,0	9,60 b
MS sin 6-BAP	0,00	5,00	0,00	5,00	0,0	5,00 b	0,0	5,00	0,0	5,00	0,0	5,00 b

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 $p < 0,05$.

3.3. Efecto del ácido giberélico sobre la producción de microtubérculos.

En las evaluaciones correspondientes a los 7, 14, 21 y 28 días no se observó efecto del AG3 en sus diferentes concentraciones sobre la altura de las plantas, el número de hojas por planta ni el número de nudos por planta (**Tabla 17 y Figura 10**).

Tabla 17. Influencia de diferentes concentraciones de ácido giberélico sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos sobre la producción de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	TRATAMIENTOS	ALTURA DE PLANTA (cm)		NÚMERO DE HOJAS		NÚMERO DE NUDOS	
		\bar{x}	Rango Promedio	\bar{x}	Rango Promedio	\bar{x}	Rango Promedio
7 días	MS + AG3 0,2 mg. L ⁻¹	2,18	11,80	1,4	11,10	1,8	11,10
	MS + AG3 0,4 mg. L ⁻¹	1,92	9,60	1,0	8,80	1,2	8,80
	MS + AG3 0,6 mg. L ⁻¹	2,10	10,70	1,2	10,40	1,2	10,40
	MS sin AG3	2,10	9,90	1,4	11,70	2,0	11,70
14 días	MS + AG3 0,2 mg. L ⁻¹	5,06	11,40	3,6	11,40	3,6	11,40
	MS + AG3 0,4 mg. L ⁻¹	2,62	8,00	1,8	7,50	1,4	7,50
	MS + AG3 0,6 mg. L ⁻¹	2,98	8,60	2,2	8,50	2,2	8,50
	MS sin AG3	6,80	14,00	5,2	14,60	5,0	14,60
21 días	MS + AG3 0,2 mg. L ⁻¹	5,76	9,50	5,2	12,90	4,4	12,90
	MS + AG3 0,4 mg. L ⁻¹	4,64	9,20	3,0	6,90	3,0	6,90
	MS + AG3 0,6 mg. L ⁻¹	4,06	9,10	3,2	7,60	3,0	7,60
	MS sin AG3	8,28	14,20	6,4	14,60	6,4	14,60
28 días	MS + AG3 0,2 mg. L ⁻¹	6,62	9,50	6,6	12,40	4,8	12,40
	MS + AG3 0,4 mg. L ⁻¹	6,18	9,20	5,0	8,40	4,4	8,40
	MS + AG3 0,6 mg. L ⁻¹	6,06	9,10	4,6	7,20	3,6	7,20
	MS sin AG3	8,68	14,20	7,2	14,00	7,0	14,00

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 $p < 0,05$.

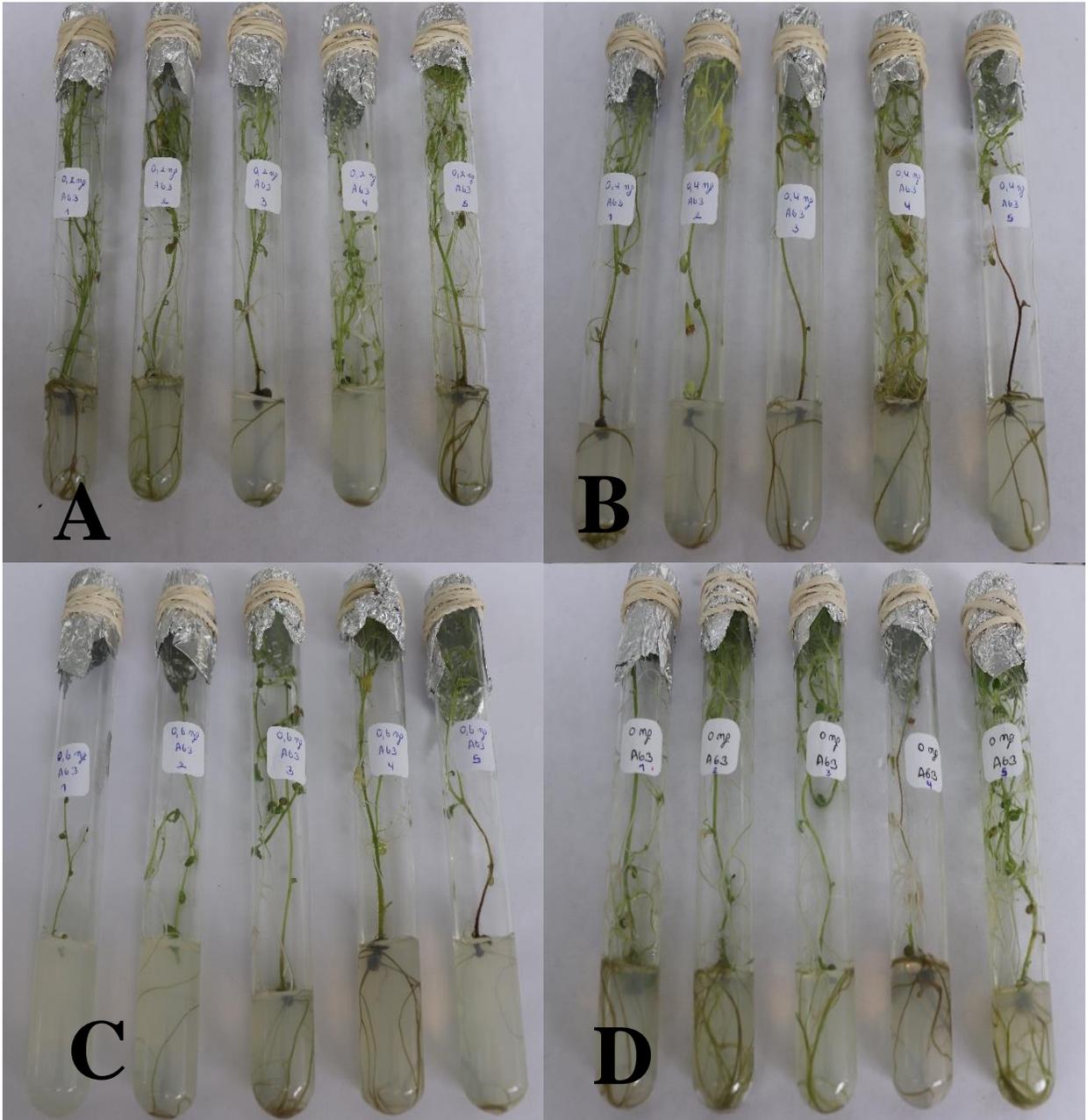


Figura 9. Segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Superchola establecidas *in vitro* con diferentes concentraciones de AG3: 0.2 mg. L⁻¹ (A), 0.4 mg. L⁻¹ (B), 0.6 mg. L⁻¹ (C) y sin AG3 (D) a los 28 días.

En la evaluación a los 65, 75 y 90 días de la influencia del ácido giberélico sobre la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. Var. Superchola, se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de AG3 sobre el número de microtubérculos producidos (**Tabla 18**).

Tabla 18. Influencia de diferentes concentraciones de AG3 sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 65, 75 y 90 días de evaluados.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS POR PLANTA					
	65 días		75 días		90 días	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
MS + AG3 0,2 mg. L ⁻¹	0,2	10,00	0,6	12,00	0,6	12,00
MS + AG3 0,4 mg. L ⁻¹	0,4	12,00	0,6	12,00	0,6	12,00
MS + AG3 0,6 mg. L ⁻¹	0,4	12,00	0,6	12,00	0,6	12,00
MS sin AG3	0,0	8,00	0,0	6,00	0,0	6,00

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 $p < 0,05$.

En la evaluación correspondiente a los 90 días de la influencia de la concentración AG3 sobre la microtuberización *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola, se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de AG3 sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y la relación de masa fresca/masa seca de lo de los microtubérculos (**Tabla 19**).

En la investigación realizada por **Moreno y Oropeza (2017)** se determinó que la adición de 0.25 mg. L⁻¹ de AG3 en el medio de cultivo MS líquido acompañado de 25 g. L⁻¹ de sacarosa en las variedades Granola y Arbolona negra, mostraron mayor número de microtubérculos bajo condiciones de días cortos en medio de cultivo MS sin BA, dando una coloración verde con muchas yemas y de forma ovalada en los microtubérculos de ambas variedades. Sin embargo, en nuestra experiencia se determinó el efecto de diferentes concentraciones de AG3 en medio de cultivo MS en estado semisólido.

Tabla 19. Efecto del AG3 sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO (mm)		LONGITUD (mm)		NÚMERO DE YEMAS		MASA FRESCA (mg)		MASA SECA (mg)		RELACIÓN MASA FRESCA/MASA SECA (%)	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
MS + AG3 0,2 mg. L⁻¹	2,67	12,20	3,28	12,80	1,8	12,50	20,0	12,00	5,4	12,70	280,0	11,20
MS + AG3 0,4 mg. L⁻¹	2,44	12,00	2,73	11,60	1,8	12,50	22,0	12,80	4,4	11,60	359,0	12,40
MS + AG3 0,6 mg. L⁻¹	2,23	11,80	2,49	11,60	1,2	11,00	17,0	11,20	3,8	11,70	363,0	12,40
MS sin AG3	0,00	6,00	0,00	6,00	0,0	6,00	0,0	6,00	0,0	6,00	0,0	6,00

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 $p < 0,05$.

3.4. Efecto de la sacarosa sobre la producción de microtubérculos.

La adición de sacarosa al medio de cultivo MS en todas sus concentraciones incrementó la altura de las plantas, número de hojas y número de nudos por planta (**Tabla 20 y Figura 10**).

En los estudios realizados por **Corria et al. (2004)** manifestaron que, al utilizar diferentes concentraciones de sacarosa de *Dioscorea alata* L. Var Cartagena de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 % han favorecido a la producción de los microtubérculos, recalando que al emplear 6 y 8 % de sacarosa, tuvieron un mayor número y tamaño de microtubérculos al compararla con las demás concentraciones que solo aumentaron el peso de los mismos, sin embargo, al utilizar el 10 % de sacarosa hubo una disminución en cuanto al peso de los microtubérculos.

Según **Al-Hussaini et al. (2015)** en su investigación emplearon diferentes concentraciones de sacarosa (60 y 80 g. L⁻¹) para la microtuberización *in vitro* de las variedades Reverra y Arnova en distintos periodos de luz (5 y 10 días) antes de ser colocados en la oscuridad. Dando como el mejor resultado la concentración de 80 g. L⁻¹ de sacarosa en las dos variedades de papa empleados a los 10 días de luz sobre el peso, tamaño y número de los microtubérculos.

Tabla 20. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre la altura de planta, número de hojas y número de nudos de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 14, 21, 28, 35 y 42 días.

TRATAMIENTOS	ALTURA DE PLANTA (cm)		NÚMERO DE HOJAS		NÚMERO DE NUDOS		
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango Promedio	\bar{x}	Rango promedio	
14 días	Sacarosa 10% en medio MS	2,22	13,10 a	1,2	12,10 a	1,0	12,90 a
	Sacarosa 8 % en medio MS	1,52	11,10 a	1,0	10,80 a	0,6	9,50 a
	Sacarosa 6% en medio MS	1,66	13,60 a	1,6	14,60 a	1,2	14,60 a
	MS sin sacarosa	0,24	4,20 b	0,0	4,50 b	0,0	5,00 b
21 días	Sacarosa 10% en medio MS	5,10	15,20 a	3,6	14,60 a	3,4	15,30 a
	Sacarosa 8 % en medio MS	3,84	13,00 a	2,6	12,70 a	2,6	12,20 a
	Sacarosa 6% en medio MS	2,92	10,80 a	2,4	11,70 a	2,4	11,50 a
	MS sin sacarosa	0,24	3,00 b	0,0	3,00 b	0,0	3,00 b
28 días	Sacarosa 10% en medio MS	6,78	16,50 a	5,2	16,20 a	4,6	15,30 a
	Sacarosa 8 % en medio MS	5,30	13,10 a	4,2	13,40 a	4,0	12,70 a
	Sacarosa 6% en medio MS	3,60	9,40 a	3,2	9,40 a	3,4	11,00 a
	MS sin sacarosa	0,30	3,00 b	0,0	3,00 b	0,0	3,00 b
35 días	Sacarosa 10% en medio MS	7,64	15,50 a	6,4	15,40 a	5,6	15,40 a
	Sacarosa 8 % en medio MS	6,62	12,70 a	5,6	12,90 a	5,2	13,90 a
	Sacarosa 6% en medio MS	5,32	10,80 a	4,8	10,70 a	4,0	9,70 a
	MS sin sacarosa	0,34	3,00 b	0,4	3,00 b	0,0	3,00 b
42 días	Sacarosa 10% en medio MS	9,00	17,20 a	9,4	16,90 a	7,4	16,60 a
	Sacarosa 8 % en medio MS	6,98	11,30 a	7,2	11,30 a	6,2	12,70 a
	Sacarosa 6% en medio MS	5,86	10,50 a	6,6	10,80 a	5,0	9,70 a
	MS sin sacarosa	0,44	3,00 b	0,4	3,00 b	0,0	3,00 b

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 $p < 0,05$.

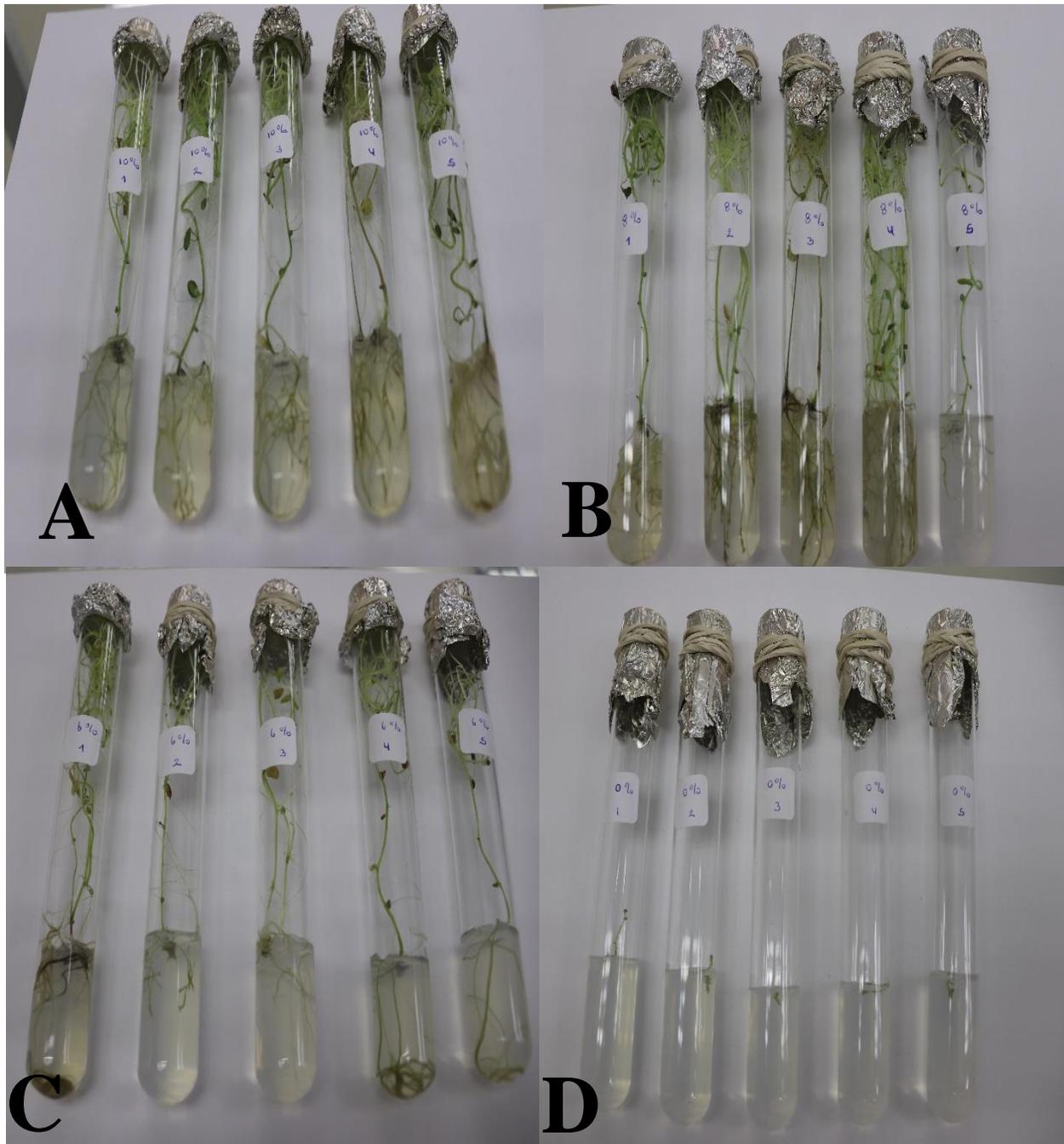


Figura 10. Segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Superchola establecidos *in vitro* con diferentes concentraciones de sacarosa al 6 % (A), 8 % (B), 10 % (C) y sin sacarosa (D) a los 42 días.

La adición de sacarosa al medio de cultivo MS en ninguna de las concentraciones utilizados incrementó el número de microtubérculos por planta en todas las evaluaciones realizadas (**Tabla 21**).

Tabla 21. Influencia de diferentes concentraciones de Sacarosa sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de plantas de *S. tuberosum* Var. Superchola a los 65, 75 y 90 días.

Tratamientos	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS POR PLANTA					
	90 días		120 días		134 días	
	\bar{x}	Rango Promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango Promedio
Sacarosa 10% en medio MS	0,0	10,00	0,8	12,20	1,0	11,40
Sacarosa 8 % en medio MS	0,0	10,00	0,8	13,10	1,2	13,80
Sacarosa 6% en medio MS	0,2	12,00	0,6	11,20	0,8	11,80
MS sin sacarosa	0,0	10,00	0,0	5,50	0,0	5,00

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 $p < 0,05$.

La adición de sacarosa al medio de cultivo MS no incrementó el diámetro, la longitud, el número de yemas, la masa fresca, la masa seca, ni la relación masa fresca/masa seca de los microtubérculos obtenidos (**Tabla 22**).

Tabla 22. Efecto de diferentes concentraciones de sacarosa sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de microtubérculos de *S. tuberosum* Var. Superchola.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO (mm)		LONGITUD (mm)		NÚMERO DE YEMAS		MASA FRESCA (mg)		MASA SECA (mg)		RELACIÓN MASA FRESCA/MASA SECA (%)	
	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio	\bar{x}	Rango promedio
Sacarosa 10% en medio MS	1,96	10,80	2,52	11,40	1,2	11,50	22,3	12,40	2,4	11,90	623	11,80
Sacarosa 8 % en medio MS	2,19	13,40	2,61	12,40	1,6	12,80	19,8	13,00	2,9	13,40	526	12,00
Sacarosa 6% en medio MS	2,56	12,80	3,33	13,20	1,6	12,70	13,8	11,60	2,0	11,70	612	13,20
MS sin sacarosa	0,00	5,00	0,00	5,00	0,0	5,00	0,0	5,00	0,0	5,00	0	5,00

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 $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. A medida que disminuyeron las concentraciones de sales MS en el medio de cultivo semisólido se redujo la altura de las plantas, el número de hojas y número de nudos por planta.
2. La adición de Kinetina al medio de cultivo MS en estado semisólido no tuvo efecto sobre la altura de las plantas, el número de hojas y nudos por planta.
3. La adición de 6-BAP no influyó sobre la altura de las plantas, el número de hojas y nudos por planta.
4. La concentración de 2,5 mg. L⁻¹ de 6-BAP favoreció la producción de microtubérculos a los 75 y 90 días.
5. La adición de AG3 al medio de cultivo MS en estado semisólido no influyó sobre la altura de las plantas, el número de hojas, nudos por planta y número de microtubérculos por planta.
6. La adición de AG3 al medio de cultivo MS en estado semisólido no influyó sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de los microtubérculos de *Solanum tuberosum* VAR. Superchola.
7. Suplementar con sacarosa el medio de cultivo MS en estado semisólido no influyó sobre la altura de las plantas, el número de hojas, número de nudos por planta y número de microtubérculos por planta.
8. Colocar sacarosa al medio de cultivo MS en estado semisólido no influyó sobre el diámetro, longitud, número de yemas, masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca de los microtubérculos de *Solanum tuberosum* VAR. Superchola.

4.2. RECOMENDACIONES

1. Utilizar 100% de sales MS con fitohormonas: 6-BAP y AG3 para la obtención de microtubérculos *in vitro*.
2. Utilizar diferentes concentraciones de Kinetina combinada con otras hormonas para la producción de microtubérculos *in vitro*.
3. No utilizar bajas concentraciones de Kinetina para la fase de microtuberización *in vitro*.
4. Utilizar altas concentraciones de AG3 para incrementar el número de microtubérculos por planta en la fase de microtuberización *in vitro* de plantas de papa Var. Superchola.
5. Utilizar horas de oscuridad para la fase de microtuberización *in vitro* de plantas de papa Var. Superchola.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Al-Hussaini, Z. A., Yousif, S. H. A., & Al-Ajeely, S. A. (2015). The role of sucrose and light duration on in vitro tuberization for two cultivars of potato *Solanum tuberosum* L. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 4, 277-283.
- ALI, S., KHAN, N., NOUROZ, F., ERUM, S. & NASIM, W. (2018). Effects of sucrose and growth regulators on the microtuberization of potato germplasm. *Pakistan Journal of Botany*, 50(2), 763-768. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323254321_Effects_of_sucrose_and_growth_regulators_on_the_microtuberization_of_potato_germplasm.
- Amina, B., Meriem, K.H., Benamar, B. (2021). Evaluation of different culture media and activated charcoal supply on yield and quality of potato microtubers grown *in vitro*, *Journal of Plant Nutrition*, 44(14), 2123-2137 Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/01904167.2021.1881545?scroll=top&needAccess=true>.
- Araque Barrera, E. J., Bohórquez Quintero, M. D. L. A., Pacheco Díaz, J. E., Correa Mora, L. Y., Urquijo Ruíz, J. S., Castañeda Garzón, S. L., & Pacheco Maldonado, J. C. (2018). Propagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21-31.
- Beena, N., Haider, A. & Haibat, A. (2019). EVALUATION OF IN VITRO TUBER INDUCTION ABILITY OF TWO POTATO GENOTYPES. *Pak. J. Agri. Sci*, 56(1), pp. 77-81. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/331331564_Evaluation_of_in_vitro_tuber_induction_ability_of_two_potato_genotypes.

- Benaviddes, L. E. B., Paredes, H. A. L., Paredes, M. V. L., & Franco, G. G. (2018). La precarización salarial en la actividad agrícola y su incidencia en la política de economía popular y solidaria en el Ecuador. *Economía*, 41(81), 47-67.
- Cabrera Jova, M. A. (2009). Empleo de métodos biotecnológicos para la propagación de ñame. *Biotecnología vegetal*, 9(4), 195-209.
- Cabrera Jova, M., Gómez Kosky, R., Rayas Cabrera, A., DeFeria, M., López Torres, J., Basail Pérez, M., & Medero Vega, V. (2009). Protocolo para la formación de microtubérculos de ñame (*Dioscorea alata* L.) en sistema de inmersión temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 19-30.
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *INIA, Uruguay*.
- Castro, J. I., Agramonte, D., Alvarado-Capó, Y., de Feria, M., & Pugh, T. (2012). Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. *Biotecnología vegetal*, 12(1), 4-24.
- Chila, S. J. Z., Espinoza, C. M., & Martínez, M. E. E. (2017). Cultivo de la papa y sus condiciones climáticas. *Gestión Ingenio y Sociedad*, 2(2), 140-152.
- Corria, M. G., Escalona, M., & Meneses, S. (2004). Efecto de la concentración de sacarosa y de reguladores del crecimiento en la tuberización in vitro de *Dioscorea alata* L. variedad Cartagena. *Biotecnología vegetal*, 4(4), 243-246.
- Cortez, O., & Cesar, J. (2017). Rendimiento de dos variables de papa (*Solanum tuberosum* L.) con la aplicación de tierra negra y fertilizantes inorgánicos. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 4(2), 56-69.
- del Carmen Suárez, N., Peña, O. D., & Amaya, A. (2007). Cultivando papa en complicidad con la naturaleza. *Revista Luna Azul*, (24), 23-34.
- EFSA. (2010). Patata. <https://www.fen.org.es/MercadoAlimentosFEN/pdfs/patata.pdf>
- Elizondo, A. I., Murguido, C. A., Fernández, E., Martínez, M., Licor, L., Castellanos, L., & Jiménez, R. (2002). IMPACTO DEL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS EN LA

RECUPERACIÓN DE LOS ENEMIGOS NATURALES EN EL CULTIVO DE LA PAPA
(*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad*, 6(1), 29-34.

Estévez, A., González, M. E., Castillo, J. G., & Salomón, J. L. (2006). Anita, una nueva variedad cubana de papa. *Cultivos Tropicales*, 27(1), 69-70.

Jiménez, R. (2002). IMPACTO DEL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS EN LA RECUPERACIÓN DE LOS ENEMIGOS NATURALES EN EL CULTIVO DE LA PAPA (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad*, 6(1), 29-34.

Fernández Suárez, K., Fernández Martín, F., & Declerck, S. (2013). Búsqueda de un medio de cultivo para la micorrización in vitro de plántulas de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 34(4), 9-19.

Flores-López, R., Sánchez-del Castillo, F., Rodríguez-Pérez, J. E., Mora-Aguilar, R., Colinas-León, M. T., & Lozoya-Saldaña, H. (2009). Influencia de la radiación solar en la producción de semilla-tubérculo de papa bajo cultivo sin suelo. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(1), 25-30.

Garzón, F. J. M. (2007). Sociedades precolombinas asociadas a la domesticación y cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) en Sudamérica. *Revista Latinoamericana de la papa*, 14(1), 1-9.

Gnanasekaran, C. G., & Basalingappa, K. M. (2018). *Solanum tuberosum* L: Botanical, Phytochemical, pharmacological and Nutritional significance. *International journal of Phytomedicine*, 10(3), 115-124.

GONZÁLEZ, B., CONTRERAS, I., & MOLINA, O. (2005). Negociación de los Pesticidas utilizados para el control de plagas y enfermedades-Rubro Papa. Municipio Rangel-Estado Mérida. *Visión Gerencial*, 4(2), 99-116.

González, M., Mogollón, N., Alvarado, G., Giménez, A., & Capote, T. (2012). Efecto del medio de cultivo in vitro y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento del cocuy (*Agave cocui* Trelease). *Bioagro*, 24(1), 39-44.

Hernández, A. (1999). Revisión bibliográfica La producción de papa por semilla sexual. *Cultivos Tropicales*, 20(4), 57-71.

- Herrera-Isidron, L., Valencia-Lozano, E., Rosiles-Loeza, P.Y., Robles-Hernández, M.G., Napsuciale-Heredia, A., Cabrera-Ponce, J.L. (2021). Gene Expression Analysis of Microtubers of Potato *Solanum tuberosum* L. Induced in Cytokinin Containing Medium and Osmotic Stress. *Plants*, 10(5), 876. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10050876>.
- Jova, M. C., Kosky, R. G., Cabrera, A. R., DeFeria, M., Torres, J. L., Vega, V. M., ... & Pino, A. S. (2010). Evaluación en campo de plantas de ñame (*Dioscorea alata* L.) obtenidas de los microtubérculos formados en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1), 47-56.
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). Hormonas y reguladores del crecimiento: etileno, ácido abscísico, brasinoesteroides, poliaminas, ácido salicílico y ácido jasmónico. *Fisiología vegetal*. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile.
- Khorsandi, S., Motallebi Azar, A., Zaare Nahandi, F., Hatami, A., & Mokhtarzadeh, S. (2020). "Effect of Different Concentrations of BAP and Putrescine on Potato Microtuberization (cv. Agria)". *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(2), 723-731. DOI: 10.21597/jist.597193.
- Lázaro, A. J. P., Amasifuen, A. D. H., & Pillasca, H. B. D. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento in vitro de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja). *Manglar*, 18(2), 123-128.
- Maradiaga, M. D. A., Cardona, R. Y. C., Zelaya, M. I. O., & Rodríguez, J. E. Z. (2016). Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar burren, en biorreactores económicos de inmersión temporal. *La Calera*, 16(27), 75-80.
- Márquez-Vasallo, Y., Salomón-Díaz, J. L., & Acosta-Roca, R. (2020). Análisis de la interacción genotipo ambiente en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 41(1).
- Mora Quilismal, S. R., Aguila Alcantara, E., Ruiz González, Y., Balarezo Urresta, L. R., & Benavides Rosales, H. R. (2018). Alternativas de bio-fertilización sobre indicadores

- morfológicos y productivos de *Solanum tuberosum* L. en Andisoles del Carchi-Ecuador. *Centro Agrícola*, 45(3), 44-50.
- Morales, C. A. M., & Silva, A. I. E. (2007). El manejo integrado de plagas de insectos en Cuba. *Fitosanidad*, 11(3), 23-28.
- Moreno, M., & Oropeza, M. (2017). Efecto de las hormonas vegetales y el fotoperiodo en la producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 29-38.
- Morocho, M. T., & Leiva-Mora, M. (2019). Efficient microorganisms, functional properties and agricultural applications. *Centro Agrícola*, 46(2), 93-103.
- Naranjo-Ramírez, S., & Arias-Giraldo, S. (2020). Tendencias en el mundo de la gastronomía y la alimentación: una revisión desde la perspectiva colombiana. *Agroalimentaria*, 26(50), 51-65.
- Nova-López, C. J., Muñoz-Pérez, J. M., Granger-Serrano, L. F., Arias-Zabala, M. E., & Arango-Isaza, R. E. (2017). Expression of recombinant Cry 1Ac protein in potato plant cell suspension culture: Establishment of culture and optimization of biomass and protein production by nitrogen supply. *Dyna*, 84(201), 34-41.
- 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)*, Supl.1: 191-202.
- Olivares, B. O., & Hernández, R. Á. (2019). Sectorización ecoterritorial para la producción agrícola sostenible del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Carabobo, Venezuela. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(2), 323-354.
- Parra Alarcón, E. A., Hijuitl Valeriano, T. D. J., Mariscal Landín, G., & Reis de Souza, T. C. (2022). Concentrado de proteína de papa: una posible alternativa al uso de antibióticos en las dietas para lechones destetados. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 13(2), 510-524.
- Portela-Ramírez, Alexander., Flórez-Roncancio, Víctor Julio, & García-Flórez, Manuel. (2009). SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD CITOQUINÍNICA ESTIMULAN LA BROTAÇÃO

- DE YEMAS EN TUBERCULOS DE PAPA. *Bragantia*, 68(3),555-562.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90811757001>.
- Priyadarshani, P.M., VK Batra, S.K., & Anil, K.P. (2018). Multiplicación in vitro y Microtuberización de *Solanum tuberosum* utilizando diferentes métodos de crecimiento. Reguladores Vegetales. *Una revista internacional de investigación vegetal y biotecnología*, 31(2), pp. 114-122.
https://www.researchgate.net/publication/326341292_In_vitro_Multiplication_and_Micro_tuberization_of_Solanum_tuberosum_using_different_Growth_Regulators.
- Rizzo, S. V. (2020). Efecto de diferentes tipos de luz en el crecimiento de plantas in vitro: Revisión de Literatura.
- Rodríguez, L. E. (2010). Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 28(1), 9-17.
- Rodríguez, L. E., & Moreno, L. P. (2010). Factores y mecanismos relacionados con la dormancia en tubérculos de papa. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 189-197.
- Saker, M. M., Moussa, T. A., Heikal, N. Z., ELLil, A. H. A., & Abdel-Rahman, R. M. (2012). Selection of an efficient *in vitro* micropropagation and regeneration system for potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Desiree. *African Journal of Biotechnology*, 11(98), 16388-16404.
- Salomón, J. L. (2013). Comportamiento de progenies híbridas de papa (*Solanum tuberosum* L.) a partir de semilla botánica. *Cultivos Tropicales*, 23(2), 59-61.
- Sánchez Rojo, S., & López Delgado, H.A. (2010). PERÓXIDO DE HIDRÓGENO COMO INDUCTOR DE TUBERIZACIÓN in vitro EN PLANTAS DE PAPA. *Interciencia*, 35(3), pp. 213-216. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33913157011>.
- Tacoronte, M., Vielma, M., Olivo, A., & Chacín, N. (2017). Efectos de nitratos y sacarosa en la propagación *in vitro* de tres variedades de papa nativa. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 63-73.

- Teng, Y., Zhang, Y., Guo, J. T., Gao, Y. L. & Li, K. H. (2019). Acid pretreatment improves microtuberization of potato plantlets. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, (55), 36-43. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11627-018-09950-6>.
- Vega, V. R. M., Pérez, M. B., Rumbaut, O. M., Pino, A. S., Cabrera, A. R., Torres, J. L., ... & Ruiz, M. M. (2016). Empleo de la biotecnología para la producción de semilla categorizada en malanga. *Agricultura Tropical*, 2(1), 52-60.
- Villanueva, D., & Saldamando, C. I. (2013). *Tecia solanivora*, Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae): una revisión sobre su origen, dispersión y estrategias de control biológico. *Ingeniería y ciencia*, 9(18), 197-214.

ANEXOS

Efecto de sales MS sobre la microtuberización *in vitro*

Influencia de las sales MS sobre la altura de la planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	6,145	4,270	3,417	3,794
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,105	,234	,332	,285

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de las sales MS sobre el número de hojas por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	2,649	4,773	4,101	4,689
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,449	,189	,251	,196

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de las sales MS sobre el número de nudos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	2,235	,278	,336	,795
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,525	,964	,953	,851

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Efecto de la Kinetina sobre la microtuberización *in vitro*

Influencia de la Kinetina sobre la altura de la planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	4,362	4,425	7,577	8,531
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,225	,219	,056	,036

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la Kinetina sobre el número de hojas por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	2,865	,006	,931	4,772
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,413	1,000	,818	,189

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la Kinetina sobre el número de nudos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	,253	4,493	6,834	4,843
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,969	,213	,077	,184

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Efecto del 6-BAP sobre la microtuberización *in vitro*

Influencia del 6-BAP sobre la altura de la planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	11,472	2,613	6,959	7,262
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,009	,455	,073	,064

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del 6-BAP sobre el número de hojas por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	1,583	6,725	9,136	11,760
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,663	,081	,028	,008

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del 6-BAP sobre el número de nudos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

	Estadísticos de prueba ^{a,b}			
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	2,059	8,046	9,445	9,707
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,560	,045	,024	,021

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del 6-BAP sobre el número de microtubérculos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 52, 65, 75 y 90 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	52 días	65 días	75 días	90 días
H de Kruskal-Wallis	2,111	4,750	10,244	10,244
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,550	,191	,017	,017

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del 6-BAP sobre el diámetro, longitud y número de yemas por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}			
	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Número de yemas
H de Kruskal-Wallis	6,679	6,924	8,023
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,083	,074	,046

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del 6-BAP sobre la masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}			
	Masa fresca (mg)	Masa seca (mg)	Relación masa fresca/masa seca
H de Kruskal-Wallis	6,991	6,948	11,950
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,072	,074	,008

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Efecto del AG3 sobre la microtuberización *in vitro*.

Influencia del AG3 sobre la altura de la planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	,416	3,284	2,632	2,593
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,937	,350	,452	,459

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del AG3 sobre el número de hojas por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	,793	4,585	6,487	4,526
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,851	,205	,090	,210

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del AG3 sobre el número de nudos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}				
	7 días	14 días	21 días	28 días
H de Kruskal-Wallis	1,711	5,222	4,537	5,270
gl	3	3	3	3
Sig. asintótica	,635	,156	,209	,153

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del AG3 sobre el número de microtubérculos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 7, 14, 21 y 28 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	65 días	75 días	90 días
H de Kruskal-Wallis	2,787	5,182	5,182
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,426	,159	,159

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del AG3 sobre el diámetro, longitud y número de yemas por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Número de yemas
H de Kruskal-Wallis	4,635	4,786	4,918
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,201	,188	,178

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia del AG3 sobre la masa fresca, masa seca y relación masa fresca/masa seca por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Masa fresca (mg)	Masa seca (mg)	Relación masa fresca/masa seca
H de Kruskal-Wallis	4,841	4,753	4,786
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,184	,191	,188

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Efecto de la sacarosa sobre la microtuberización *in vitro*.

Influencia de la sacarosa sobre la altura de la planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 14, 21, 28, 35 y 42 días.

Estadísticos de prueba ^{a,b}					
	14 días	21 días	28 días	35 días	42 días
H de Kruskal-Wallis	8,078	12,097	14,339	12,321	14,584
gl	3	3	3	3	3
Sig. asintótica	,044	,007	,002	,006	,002

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la sacarosa sobre el número de hojas por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 14, 21, 28, 35 y 42 días.

Estadísticos de prueba ^{a,b}					
	14 días	21 días	28 días	35 días	42 días
H de Kruskal-Wallis	9,006	12,01	14,75	12,54	14,29
gl	3	3	3	3	3
Sig. asintótica	,029	,007	,002	,006	,003

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la sacarosa sobre el número de nudos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 14, 21, 28, 35 y 42 días.

Estadísticos de prueba ^{a,b}					
	14 días	21 días	28 días	35 días	42 días
H de Kruskal-Wallis	9,114	12,53	12,87	13,87	14,67
gl	3	3	3	3	3
Sig. asintótica	,028	,006	,005	,003	,002

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la sacarosa sobre el número de microtubérculos por planta de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola a los 90, 120 y 134 días.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	90 días	120 días	134 días
H de Kruskal-Wallis	3,000	6,389	7,370
Gl	3	3	3
Sig. Asintótica	,392	,094	,061

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la sacarosa sobre el diámetro, longitud, número de yemas por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Número de yemas
H de Kruskal-Wallis	6,921	6,589	6,557
Gl	3	3	3
Sig. Asintótica	,074	,086	,087

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

Influencia de la sacarosa sobre la masa fresca, masa seca y relación de masa fresca/ masa seca por microtubérculo de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola.

Estadísticos de prueba^{a,b}

	Masa fresca (mg)	Masa seca (mg)	Relación masa fresca/masa seca
H de Kruskal-Wallis	6,488	6,621	6,513
gl	3	3	3
Sig. asintótica	,090	,085	,089

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001