

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE DESARROLLO INTEGRAL AGROPECUARIO

Tema: “Evaluación de tres medios de cultivo para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Superchola.”

Trabajo de titulación previa la obtención del
Título de Ingeniera en Desarrollo Integral Agropecuario

AUTORA: Jhocelin Andrea Polo Soto

TUTOR: Ing. Ramiro Mora Quilismal M.Sc.

TULCÁN - ECUADOR

2019

CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR

Certificamos que la estudiante Jhocelin Andrea Polo Soto con el número de cédula 040136527-5 ha elaborado el trabajo de titulación: “Evaluación de tres medios de cultivo para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de Titulación, Sustentación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizamos la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

.....
Ing. Ramiro Mora Quilismal M.Sc.

.....
Ing. Marcelo Ibarra M.Sc.

Tulcán, 1 de febrero del 2019

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye requisito previo para la obtención del título de Ingeniera de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales.

Yo, Jhocelin Andrea Polo Soto con cédula de identidad número 040136527-5, declaro: que la investigación es absolutamente original, autentica, personal. Los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

.....

Jhocelin Andrea Polo Soto

Tulcán, 1 de febrero del 2019

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jhocelin Andrea Polo Soto declaro ser autor/a de los criterios emitidos en el trabajo de investigación: “Evaluación de tres medios de cultivo para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.” y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

.....

Jhocelin Andrea Polo Soto

Tulcán, 1 de febrero del 2019

AGRADECIMIENTO

En la presente investigación quiero agradecer a Dios, por haberme permitido culminar mis estudios, y haberme dado salud para lograr cumplir con mis objetivos, además de su infinito amor y bondad.

A mis padres, María de Lourdes y Luis Alberto que siempre me brindaron su apoyo, su confianza, sus valores y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien; a mis hermanos Claudia y Jhon quienes siempre me brindaron su amor y su cariño.

A mis amados abuelitos Juanita, Luchito, Enriqueito y Marianita+, que siempre velaron por mi bienestar, han cuidado y guiaron por el buen camino, quienes creyeron siempre en mis capacidades para salir adelante.

A Danny quien con su amor y cariño me ha dado aliento para continuar y nunca desfallecer, gracias a él porque en todo momento fue un apoyo incondicional en mi vida, es la felicidad encajada en una sola persona, Mona, porque es la persona favorita en el mundo y sin importar la distancia ha estado conmigo, gracias por brindarme tu ayuda en cada circunstancia que la he necesitado.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, a la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales; especialmente a quienes conforman la Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario por brindar sus conocimientos impartidos en todo el ciclo de estudio, así mismo al Químico Vinicio Revelo, Lic. Anita Cerón y a Santiago por su aporte en la parte experimental de mi investigación, por su amistad incondicional, y su apoyo incondicional.

Un agradecimiento sincero al Ing. Ángel Pozo quien me guio para aclarar todas mis dudas además, gran amigo que con su enseñanza y su sabiduría ha formado una profesional de grandes conocimientos.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a Dios, quien me dio la sabiduría y la fuerza para seguir adelante y no decaer en los problemas presentados.

A mis queridos padres María de Lourdes y Luis Alberto por ser el pilar más importante de mi vida, tengan en cuenta que cada triunfo es por ustedes y para ustedes, los amo con toda el alma; a mis hermanos Claudia y Jhon, por brindarme su tiempo y el regalo más grande de ser tía de las más hermosas princesas, Samara, Sajahely, Isabella y Keyri.

A mis abuelitos Juanita, Luchito, Enriquito y Marianita+, porque desde el inicio confiaron en mí, y en mis sabias decisiones, por consentir y amarme incondicionalmente, sus canas son sinónimo de sabiduría, me enseñaron cosas vitales para mi vida y me encaminaron por el sendero del bien.

A mis queridos tíos quienes han visto por mí desde muy niña, me han apoyado en mis dificultades, alentándome a esforzarme y a buscar una alternativa para cumplir mis objetivos.

A todos y cada una de las personas que han hecho posible este sueño hecho realidad, un Dios les pague por haber puesto su confianza en mí.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| CERTIFICADO JURADO EXAMINADOR | i |
| AUTORÍA DE TRABAJO..... | ii |
| ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN | iii |
| AGRADECIMIENTO..... | iv |
| DEDICATORIA..... | v |
| RESUMEN..... | xiv |
| ABSTRACT | xv |
| INTRODUCCIÓN | xvi |
| PROBLEMA | 1 |
| 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 1 |
| 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | 1 |
| 1.3. JUSTIFICACIÓN..... | 1 |
| 1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN | 3 |
| 1.4.1. Objetivo General | 3 |
| 1.4.2. Objetivos Específicos..... | 3 |
| 1.4.3. Preguntas de Investigación..... | 3 |
| II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA | 4 |
| 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS / Revisión de la literatura | 4 |
| 2.2. MARCO TEÓRICO | 5 |
| 2.2.1. Cultivo <i>in vitro</i> | 5 |
| 2.2.2 Micropropagación..... | 6 |
| 2.2.2. Fases de la micropropagación..... | 7 |
| 2.2.3. Cultivos segmentos nodales..... | 9 |
| 2.2.5. Medios de cultivo..... | 10 |
| 2.2.6. Factores ambientales | 15 |
| 2.3.1. Almidón | 17 |
| 2.3.2. Tipos de almidón..... | 18 |
| 2.3.3. Almidón de quínoa..... | 18 |
| 2.3.4. Características del almidón de quínoa | 19 |
| 2.3.5. Almidón de banano | 20 |

| | |
|--|----|
| 2.3.6. Valor nutritivo del almidón de banano | 20 |
| 2.3.7 Almidón soluble de papa | 21 |
| 2.3.7 Valor nutritivo del almidón soluble de papa | 21 |
| 2.4.1. Origen e importancia de la papa. | 21 |
| 2.4.2. Cultivar papa Superchola | 22 |
| 2.4.3. Clasificación Taxonómica del cultivo de papa (<i>Solanum Tuberosum L.</i>)..... | 22 |
| 2.4.4. Producción de Semilla de papa..... | 23 |
| 2.4.5. Tipos de Semilla de papa..... | 23 |
| 2.4.6. Calidad de Semilla..... | 24 |
| 2.4.4. Morfología de la planta | 25 |
| III. METODOLOGÍA | 27 |
| 3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO..... | 27 |
| 3.1.1. Enfoque | 27 |
| 3.1.2. Tipo de Investigación..... | 27 |
| 3.2. HIPÓTESIS | 27 |
| 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN | 28 |
| 3.3.1 Población | 28 |
| 3.3.2. Las características del ensayo..... | 28 |
| 3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES | 29 |
| 3.4. MÉTODOS UTILIZADOS | 31 |
| 3.4.1. Localización del ensayo..... | 31 |
| 3.4.2. Preparación de los medios de cultivo | 31 |
| 3.4.3. Colecta del material vegetal | 33 |
| 3.4.4. Tratamiento del material vegetal | 33 |
| 3.4.5. Recolección de explantes | 34 |
| 3.4.6. Desinfección de los explantes | 34 |
| 3.4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 35 |
| 3.4.8. Variables evaluadas en el ensayo | 36 |
| 3.4.8.1. Número de nudos..... | 36 |
| 3.4.8.2. Número de hojas..... | 37 |
| 3.4.8.3. Número de raíces | 37 |

| | |
|---|----|
| 3.4.8.4. Altura de vitroplanta | 37 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 39 |
| 4.1. RESULTADOS | 39 |
| 4.1.1. Número de nudos | 39 |
| 4.1.1. Número de nudos | 43 |
| 4.1.2. Número de raíces..... | 47 |
| 4.1.3. Número de hojas..... | 50 |
| 4.1.3. Altura de vitroplanta (cm) | 56 |
| 4.2. DISCUSIÓN..... | 59 |
| 4.3. ANÁLISIS ECONÓMICO..... | 60 |
| V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 63 |
| 5.1. CONCLUSIONES..... | 63 |
| 5.2. RECOMENDACIONES | 64 |
| VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | I |
| VII. ANEXOS | VI |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 40 |
| Figura 2. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 41 |
| Figura 3. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán-2018. | 42 |
| Figura 4. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 42 |
| Figura 5. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS), en brotes de papa Var. Superchola..... | 44 |
| Figura 6. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 45 |
| Figura 7. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán-2018. | 46 |
| Figura 8. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de | |

| | |
|---|----|
| cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 46 |
| Figura 9. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 48 |
| Figura 10. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 49 |
| Figura 11. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 50 |
| Figura 12. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 52 |
| Figura 13. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 53 |
| Figura 14. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 54 |
| Figura 15. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 55 |
| Figura 16. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres | |

| | |
|--|----|
| soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018. | 57 |
| Figura 17. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 58 |
| Figura 18. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 59 |
| Figura 19. Análisis económico en referencia a la rentabilidad en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 62 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Composición nutricional del almidón de quínoa..... | 19 |
| Tabla 2. Minerales del almidón de quínoa | 19 |
| Tabla 3. Vitaminas del almidón de quínoa..... | 20 |
| Tabla 4. Valor nutritivo del almidón de banano..... | 20 |
| Tabla 5. Nutrientes del almidón soluble de papa | 21 |
| Tabla 6. Clasificación Taxonómica de la papa..... | 23 |
| Tabla 7. Características del ensayo | 28 |
| Tabla 8. Definición y operacionalización de variables | 29 |
| Tabla 9. Tratamientos evaluados en la micropropagación de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) variedad Superchola, bajo dos dosificaciones..... | 38 |
| Tabla 10. ADEVA para la variable número de nudos en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018. | 40 |
| Tabla 11. ADEVA para la variable número de nudos en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018. | 43 |
| Tabla 12. ADEVA para la variable número de raíces en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 48 |
| Tabla 13. ADEVA para la variable número de hojas primarias en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018. | 51 |
| Tabla 14. ADEVA para la variable altura de planta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 56 |
| Tabla 15. Análisis económico de la investigación, evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018..... | 61 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo 1. Foto Semilla Superchola | VI |
| Anexo 2. Foto desinfección de la semilla..... | VI |
| Anexo 3. Foto Medios de cultivos para la siembra | VII |
| Anexo 4. Foto altura (cm) en medio MS y MS +AQ ₂₅ | VII |

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar tres medios de cultivo para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola, en condiciones controladas en el Lab. 202 de biotecnología y microbiología perteneciente a la Universidad Politécnica Estatal de Carchi, El diseño experimental fue completamente al azar, con siete tratamientos y tres repeticiones, que incluían la adición de los almidones: quínoa, banano y papa, con la utilización de dos dosis (25 g L^{-1} y 75 g L^{-1}). Las variables evaluadas fueron: número de nudos, número de hojas, número de raíces, altura (cm). Para el análisis estadístico se empleó el programa Infostat 2014 y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey $p < 0,05$. El análisis de resultados mostró que, el tratamiento dos (T₂) con M&S + AQ_{25CC}, presentó mejores resultados en las variables evaluadas, en número de nudos 19,50 por vitroplanta, número de raíces 5,75 por vitroplanta, número de hojas 19 por vitroplanta, altura (cm) 7,80cm por planta. Se demuestra que la combinación de los almidones en el medio M&S es una alternativa viable para complementar y aumentar la eficiencia para la micropropagación de papa variedad Superchola

Palabras claves: micropropagación, papa (*Solanum tuberosum L.*), medios de cultivo, almidones

ABSTRACT

In order to achieve an improvement in the production of potatoes in the province of Carchi, by using techniques such as micropropagation, an addition of starches was made in the Murashige Skoog (1962) medium by starches of quinoa, banana and soluble starch. of potato in the multiplication phase for the variety Superchola (*Solanum tuberosum* L.) research carried out in the laboratories of the State Polytechnic University of Carchi.

The statistical design applied in this investigation was Completely Random with seven treatments, and 3 repetitions per treatment, the treatments that were evaluated were based on the following starches (soluble starch of potato quinoa, banana and) in two dosages (25g L⁻¹ and 75g L⁻¹).

The addition of banana starch and soluble potato starch in the two dosages used did not give visible and expected results in terms of the variables analyzed, which were number of roots, number of leaves, number of nodes and height (cm).

The addition of quinoa starch in dosage of 25 g L⁻¹ positively influenced the formation of leaves with an average of 19 leaves/plant, in this case exceeding the control Murashige Skoog (1962) with an average of 18.50 leaves / plant, in the case of knots with an average of 19.50 knots / plant, the variable number of roots was obtained 5.75 in each plant.

The most suitable starch to carry out the micropropagation of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) Var. Supercharged was quinoa starch with the dosage of 25g L⁻¹.

Key words: micropropagation, potato (*Solanum tuberosum* L.), culture media, starches

INTRODUCCIÓN

La papa es el cultivo de mayor importancia económica en la sierra ecuatoriana, ya que es un alimento que contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, y es una fuente de ingresos económicos para las familias que se dedican a la producción de este tubérculo. La producción de papa se realiza a una altura de entre los 2700 a 3400 msnm, con temperaturas que fluctúan entre 9 y 11°C, a lo largo del callejón interandino, y donde se obtienen los mejores rendimientos (Reinoso I. , 2011).

El desarrollo del cultivo de papa generalmente se realiza por medio del tubérculo-semilla. Por lo que el uso de una semilla de buena calidad es de mucha importancia para garantizar un 30% de éxito en la producción. De lo contrario la siembra de semilla de mala calidad, trae como consecuencia la transmisión de plagas afectando la producción por el bajo rendimiento del cultivo. En la actualidad el problema de la obtención de una semilla de calidad se puede resolver utilizando diferentes técnicas, entre las cuales está el cultivo de tejidos mismo que se realiza en un sistema de producción laboratorio-invernadero-campo, generando de esta manera una semilla certificada (Calle, 2009).

A nivel mundial, desde años atrás, se realiza la propagación de papa mediante el cultivo *in vitro* de yemas axilares, que se utiliza para la producción de plántulas y microtubérculos. De igual manera ambos métodos constituyen material vegetativo para producción de semilla de papa, libre de microorganismos patógenos. Estas prácticas de propagación se realizan en condiciones controladas y asépticas, en un medio artificial, para que posteriormente se reproduzcan en campo, dando lugar a microtubérculos, que se utilizan para la obtención de semilla (Castro, & otros, 2012).

La micropropagación es considerada como la aplicación práctica que mayor aporte a nivel mundial ha brindado dentro de las diferentes técnicas del cultivo de tejidos vegetales. La regeneración de plantas a partir de cultivos *in vitro*, ocurre como consecuencia del crecimiento y desarrollo de estructuras organizadas separadas de una planta (explante), como meristemos o yemas apicales o laterales o el resultado de un proceso de formaciones nuevas (*novo*) a partir de células o grupos de células (callos), donde no existía organización

alguna; estas células pueden derivarse de órganos vegetativos o somáticos o de estructuras sexuales o gaméticas (Acosta, 2012).

Disponer de materiales y herramientas que permitan cultivar en ambientes controlados y de una asepsia total, ya sean células o tejidos, es de suma importancia para la reproducción. Además de la obtención de plantas sanas, crioconservación de material vegetal, de esta forma se pueden convertir en procesos biotecnológicos de aplicación, ayudando a crear e innovar nuevas técnicas para producción de plantas nuevas y sanas. La propagación vegetativa comprende un sinnúmero de secciones como tallos, hojas, raíces, semillas o incluso cultivos celulares, que permite una repropagación vegetativa completa de cualquier parte de la planta, una producción de variedades, sean clonales o líneas (Acosta, 2012).

Se evaluaron tres medios de cultivo los cuales fueron enriquecidos con almidones: de quínoa, banano y papa; utilizando una dosis baja de 25g L^{-1} y una dosis alta de 75g L^{-1} .

PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la provincia del Carchi, los productores de papa no tienen disponibilidad de semilla certificada y/o de buena calidad, debido que los agricultores utilizan la semilla que salen de sus propios cultivos sin darle un buen tratamiento de desinfección, debido a esto los parámetros de germinación, vigor, pureza y sanidad se ven afectados trayendo como consecuencia bajos rendimientos en el cultivo, afectando la economía del sector papero (García, 2008).

Las nuevas tecnologías como es la micropropagación, no son utilizadas debido al desconocimiento, falta de asistencia técnica y provisión de recursos económicos, los cuales ayudan a la mejora de la calidad del producto.

Debido a que los productores utilizan semilla de baja calidad, se obtienen plantas con una alta incidencia en virus, plagas y enfermedades, se pierde la calidad genética de la planta, además de que hacen uso irracional de plaguicidas, que provocan el deterioro del ambiente (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2016).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El uso de semilla de mala calidad en los cultivos de papa, afecta de manera significativa el rendimiento en la producción, generando altos costos y disminuyendo la rentabilidad.

1.3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se han desarrollado varios métodos de micropropagación, los cuales dan buenos resultados en cuanto a obtener semilla certificada de buena calidad, conservando sus características genéticas, ya que podría incrementar la producción y productividad.

La micropropagación o propagación *in vitro*, ofrece una solución económica al problema de la presencia de patógenos en la semilla de papa. Las plántulas se pueden multiplicar en número ilimitado de veces, cortándolas en fracciones y sembrando estos cortes. Con las plántulas se pueden producir pequeños tubérculos en almácigos o trasplantarse al terreno, donde crecen y producen papas-semilla, económicas y libres de patógenos. Esta técnica es muy popular y se utiliza comercialmente en muchos países en desarrollo y países en transición. En Vietnam, por ejemplo, la micropropagación manejada directamente por los agricultores contribuyó a la duplicación de las cosechas en pocos años (FAO, 2008).

La micropropagación, nos permite obtener muchos individuos iguales en una pequeña superficie, controlando las condiciones ambientales, evitar que se proliferen agentes patógenos, ya que este proceso es realizado en medios estériles (Sharry, Adema, & Abedini, 2015).

El uso de medios de cultivo para la micropropagación de papa, mejora la producción de los tubérculos, como también nos ayuda a fomentar una agricultura sostenible, ya que permite la propagación en forma masiva e incrementa la producción y productividad, además de obtener plantas libres de virus y mejorar la genética (Patiño, 2012). empleó en la investigación tres medios de cultivo enriquecidos con almidones como son: almidón soluble de papa, quínoa y banano, en una dosis alta y baja.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de medios de cultivos alternativos, para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum*) variedad Superchola.

1.4.2. Objetivos Específicos

- ✓ Determinar cuál de los tres medios de cultivo es el adecuado, para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.
- ✓ Determinar la dosificación más conveniente (25g L^{-1} y 75g L^{-1}) para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.
- ✓ Realizar el análisis económico de los tratamientos en estudio.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ✓ ¿Cuál de los tres medios establecidos es el adecuado para la micropropagación?
- ✓ ¿Cuál es la dosificación más conveniente para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*)?
- ✓ ¿Cuál es el tratamiento más económico para la micropropagación?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS / Revisión de la literatura

En la Universidad Nacional de Colombia, Tabares, Jaramillo, González, & Cotés (2009), la investigación fue la obtención de plantas de papa (*Solanum tuberosum L.*) a partir de meristemas y su micropropagación en forma múltiple, con utilización de semilla certificada de papa. En este trabajo se utilizaron tres variedades de papa DIACOL-Capiro, ICA-Cumanday e ICA-Puracé, aquí se comprobó que las condiciones ambientales de fotoperiodo, intensidad lumínica y temperatura, tienen un efecto significativo en el desarrollo de las meristemas y las tres variedades de papas exhiben una capacidad regenerativa diferente. Para el cultivo de nudos de las tres variedades el medio más adecuado fue el medio líquido; ya que en éste el crecimiento resultó ser más rápido, debido, posiblemente, a la mayor disponibilidad de nutrientes, mejor aireación y a la pérdida de la dominancia apical.

En la Universidad Mayor de San Andrés, García C. (2008), manifiesta que la adición de extracto de harina de quínoa como sustituto de la solución de vitaminas del medio Murashige y Skoog (1962), influyó positivamente en la formación de nudos. Con la adición de 25 g/L con un valor de 22.6 nudos/planta para la variedad de papa Imilla negra, y para la variedad de papa, Waycha paceña el nivel 25g L⁻¹ produjo el mejor promedio con un valor de 18 nudos; superando en ambos casos al testigo; el mismo efecto se tuvo sobre las variables N° de hojas y N° de raíces al adicionar 25 g L⁻¹ para ambas variedades.

En la Universidad de Nariño en la investigación de G, Cárdenas & Cárdenas (2012) evaluaron la sustitución parcial de agar por almidón de papa variedad Diacol Capiro, en proporciones de 50, 45 y 40% en medio de cultivo para micropropagación de lulo *Solanum quitoense Lam.* Se observó que, al aumentar la concentración del almidón de papa, se presenta una disminución en la consistencia del medio. Se encontró significancia estadística en la longitud de los explantes, arrojando que el mejor resultado fue en los medios gelificados con 60-40% de agar-almidón de papa.

En la estación Experimental Agraria INTA, la investigación de Rigato, (2004), la producción de plántulas de papa en laboratorio (*in vitro*) se realizaba casi exclusivamente con métodos de los años '80, susceptibles de contaminación microbiana, que suele provocar elevada proporción de pérdidas, debido a este problema, el INTA desarrolló el Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH), que combina las técnicas de micropropagación y multiplicación autotrófica y puede realizarse en instalaciones sencillas. Explica que mediante esta técnica es posible obtener una mayor cantidad de plántulas, como 200 plantas producidas *in vitro* se pueden lograr 10.000 plantines en 1 mes, de mejor calidad fisiológica, más aptas para el trasplante, en menos tiempo y a un costo menor. Además de que esta nueva tecnología ha sido adaptada con mucha rapidez en diferentes laboratorios y productores como son en los países de Bolivia, Chile Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Cultivo *in vitro*

El cultivo de vegetales abarca tanto el cultivo aséptico de tejidos como de células y órganos.

Se le llama *in vitro* porque se cultiva en frascos de vidrio o plástico transparente, y es una descripción genérica que involucra diferentes técnicas de cultivo vegetal diverso incluyendo las de protoplasto, tejidos, órganos y plantas completas. Mediante estas y otras técnicas de cultivo es posible obtener plantas sanas en un medio de cultivo estéril y condiciones ambientales controladas. El éxito en la propagación de una especie depende de que solo se logre la expresión de la potencialidad celular, es decir, generar nuevos tejidos y eventualmente un organismo completo.

El proceso de la técnica de cultivo *in vitro* ha permitido grandes progresos en el conocimiento de los factores que intervienen en el desarrollo de una planta, como son: su crecimiento, desarrollo y floración (CENTA, 2010).

2.2.2 Micropropagación

Consiste en la propagación de plantas en un ambiente artificial controlado, empleando un medio de cultivo adecuado. El cultivo es así una herramienta muy útil en los programas de mejoramiento, ya que tiene el potencial de producir plantas de calidad uniforme a escala comercial, a partir de un genotipo selecto y con una tasa de multiplicación ilimitada.

Esto es posible gracias a la propiedad de totipotencia que tienen las células vegetales; esto es la capacidad de regenerar una planta completa cuando están sujetas a los estímulos adecuados. Así, las células somáticas de cualquier tejido podrían formar tallos, raíces o embriones somáticos de acuerdo con la competencia que posea y al estímulo que reciban. Dependiendo de las características de la planta que se pretenda propagar y del objetivo perseguido, la micropropagación puede realizarse a través de tres vías de regeneración: brotación de yemas adventicias preexistentes, producción de yemas y embriogénesis somática (Olmos , Luciani , & Galdeano, 2002).

Propagación vegetativa: Trata de que no existe participación de los órganos reproductores de la planta, por medio de la estimulación de la inducción de yemas axilares que daran lugar a nuevos brotes que, una vez enraizados, formarán nuevas plantas. Es una propagación masiva, ya que la formación de yemas puede ser estimulada por un gran número y en corto espacio de tiempo.

Además es una propagación clonal, ya que la formación de yemas axilares asegura la producción de plantas conformes genéticamente al tipo original (George, Hall, & Jan de Klerk ,2008).

Propagación in vitro: Tiene lugar en frascos de cultivo y con medios de cultivos definidos en los que se controla la composición y concentración de sus componentes. Tiene lugar fuera del ambiente natural, en cámaras de cultivo donde son controladas las condiciones ambientales (luz, temperatura, humedad relativa) que se mantienen a niveles óptimos para el crecimiento.

Se mantienen condiciones asépticas en todas las manipulaciones, evitando las contaminaciones por hongos o bacterias que proliferan con rapidez en el medio de cultivo afectando negativamente al cultivo de tejidos. Para ello es esencial la esterilización del material vegetal, de los frascos y medios de cultivo (George, Hall, & Jan de Klerk , 2008).

2.2.2. Fases de la micropropagación

Los protocolos utilizados se pueden hacer énfasis en estas cinco etapas establecidas para el cultivo de tejidos: preparación de la planta madre, introducción in vitro, multiplicación, enraizamiento y aclimatación. Cada una con sus diferentes grados de complejidad y dificultad (Sharry, Adema , & Abedini, 2015).

En la investigación de Castillo, (2004) se detalla todas las fases para realizar la micropropagación:

2.2.2.1. Fase 0: Preparación de la planta madre

Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener a las plantas madre, es decir la planta donadora de yemas, durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas semanas o varios meses en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de la nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades.

2.2.2.2. Fase 1: Desinfección del material vegetal

Una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes, estos pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, entre otros. Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes

más comunes son los hongos y las bacterias que habitan en forma natural en el ambiente. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia.

A efectos de obtener las condiciones de asepsia, se trabajará en cabinas de flujo laminar para extraer los explantes a partir del material vegetal. Estos explantes se introducirán en un tubo de cultivo conteniendo medio de iniciación para poder controlarla sanidad y la viabilidad, luego de realizar la desinfección del material con hipoclorito de sodio (agua clorada comercial), pura o diluida durante un período de 5 a 15 minutos, seguido por 3 a 4 enjuagues en agua esterilizada.

2.2.2.3. Fase 2: Introducción del material in vitro

Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro.

2.2.2.4. Fase 3: Multiplicación de los brotes

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la Fase 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o división de las plantas.

El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. El número de plantas que se obtiene por la vía de la micropropagación permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados.

2.2.2.5. Fase 4: Elección de un medio de enraizamiento de los explantes

Para enraizar los explantes, se utilizan principalmente plantines individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto, el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea.

2.2.3. Cultivos segmentos nodales

El explante más usado para los procesos de micropropagación *in vitro* son las yemas vegetativas de las plantas. En los nudos o segmentos caulinares hay tejidos de crecimiento laterales que pueden ser estimulados para que desarrollen nuevos vástagos, es decir al realizar este tipo de cultivo se aísla una yema junto con una porción de tallo, para que posteriormente la acción de citoquininas frene la dominancia apical e induzca la formación yemas axilares, cuando se produce un número suficiente de yemas, pueden ser enraizados, y las plántulas obtenidas trasladadas al suelo. Pero no solo hay que tener en cuenta estos factores sino también la ubicación de la yema en el brote puesto que de esto también dependerá obtener *in vitro* los mejores vástagos.

Este método es el más utilizado en la propagación comercial, debido a la estabilidad genética de las plantas obtenidas y a la facilidad con que se ha establecido en una gran variedad de especies herbáceas y leñosas. Su principal desventaja radica en la laboriosidad del proceso, lo cual implica altos costos por mano de obra, bajos coeficientes de multiplicación en comparación con otros sistemas de regeneración y escasa posibilidad de automatización del proceso productivo (Paliz, 2012).

2.2.4. Consideraciones sobre la micropropagación

2.2.4.1. Los explantes

Es muy importante la elección de los explantes, los cuales son partes de la planta madre, que pueden ser pequeños órganos o tejidos de la planta entera. Teóricamente, células vegetales, órganos, o plantas pueden ser clonados y obtener una población donde todas individualmente tienen la misma constitución génica del progenitor.

El tipo de explante a utilizar depende del tipo de cultivo a iniciarse, el propósito del cultivo y la especie de planta a ser usada. La correcta elección del explante puede tener efectos importantes en el éxito del cultivo de tejidos. Cuando las plantas crecen en un ambiente externo son contaminadas con diferentes microorganismos y plagas. Estos contaminantes son principalmente confinados a las superficies de la planta, aunque algunos microorganismos y virus pueden adentrarse en tejidos. Cuando se realiza el cultivo de tejidos se debe tomar en cuenta esto ya que debido a que el cultivo se inicia como pequeños explantes y deben crecer en medios nutritivos que también son favorables para el crecimiento de microorganismos, este debe realizarse en condiciones totalmente asépticas (Sharry, 2015).

Los explantes tomados de plantas madre a diferentes períodos del año pueden no dar resultados reproducibles. Esto se puede deber a la variación del nivel de contaminantes externos en la planta, o debido a los cambios estacionales en los niveles de reguladores endógenos de crecimiento en las plantas madre (George, Hall, & Jan de Klerk , 2008).

2.2.5. Medios de cultivo

El material vegetal solo crecerá *in vitro* cuando se le provee de un medio nutritivo especializado. Un medio usualmente consiste en una solución de sales suplementado con los, macro y microelementos necesarios para el crecimiento de una planta entera. Los compuestos orgánicos que se incluyen en un medio de cultivo son numerosos y pertenecen a distintos grupos: vitaminas, aminoácidos, azúcares y reguladores de crecimiento. Las vitaminas son

necesarias *in vitro*, principalmente algunas del grupo B. la tiamina y el myo-inositol son esenciales para un crecimiento normal además se suele añadir piridoxina, ácido nicotínico y un aminoácido, glicina. La sacarosa está presente en gran concentración (30 g L⁻¹) porque sirve de fuente de energía y de carbono (George, Hall, & Jan de Klerk , 2008).

Los medios de cultivo incluyen agua, una fuente de carbono, compuestos inorgánicos (sales minerales), vitaminas, hormonas y factores reguladores del crecimiento. Generalmente, el pH del medio es mantenido entre 5.0 y 6.5.

Existen diferentes formulaciones, desde las más sofisticadas a las más simples, siendo la más antigua la solución de Knop, que incluso hoy en día es utilizada como base para los estudios sobre los macronutrientes necesarios para las plantas. Actualmente, se admite que la composición de un medio debe estar ajustada a las necesidades de cada especie.

Uno de los medios más utilizados es el de Murashige & Skoog (M&S), una mezcla compleja de sales complementada con vitaminas, a la cual se agrega sacarosa y agar. Por ser bastante concentrado, a veces se usa en una dilución del 50%.

El crecimiento y la diferenciación celular son controlados *in vitro* mediante modificaciones de las proporciones de hormonas y reguladores de crecimiento. De un modo general, si la proporción entre citocininas y auxinas es mayor que 1, se desarrollan brotes, si es menor, raíces, y si son iguales, callos. Sin embargo, la necesidad de utilizar medios bien definidos se aplica fundamentalmente a la investigación científica. Para el horticultor o para el docente dicha necesidad es menor, y en muchos casos, los medios alternativos son suficientes para obtener buenos resultados (Malajovich, 2014).

2.2.5.1 Medio de cultivo Murashige & Skoog:

El Medio Murashige & Skoog (MS), o MS0, fue inventado por los científicos Toshio Murashige y Folke K. Skoog en 1962 durante sus investigaciones de nuevos reguladores del desarrollo vegetal y se ha convertido en el medio más comúnmente usado en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. Como investigador doctoral de Skoog, Murashige originalmente estaba enfocado en encontrar la hormona del crecimiento presente en el jugo

del tabaco, sin tener éxito. En su lugar, el análisis del jugo de tabaco reveló altas concentraciones de minerales específicos. Una serie de experimentos posteriores demostró que variando los niveles de éstos nutrientes promovía el crecimiento sustancialmente, en comparación con formulaciones existentes. Se determinó que el nitrógeno, en particular, promovía el crecimiento del tejido de tabaco en cultivo.

El número después de las letras MS, sirve para indicar la concentración de sucrosa en el medio, por ejemplo, MS0 no contiene sucrosa, mientras que el MS20 contiene 20 g L⁻¹ de sucrosa. Esta formulación del medio Murashige & Skoog (MS) no contiene fuente de carbono (sucrosa), hormonas vegetales (auxinas y citocininas) o vitaminas. Aprobado para su uso en el cultivo de tejidos vegetales (Probiotex, 2017).

2.2.5.2. Clasificación de los medios de cultivo

Según su origen:

a) Naturales: Son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal como ser extractos de tejidos o infusiones y cuya composición química no se conoce exactamente.

b) Sintéticos: Son los medios que contienen una composición química definida cualitativamente y cuantitativamente. Se utilizan para obtener resultados reproducibles.

c) Semisintéticos: Son los sintéticos a los que se les añaden factores de crecimiento bajo una forma de un extracto orgánico complejo, como por ejemplo extracto de levadura.

Según su consistencia:

a) Líquidos: Se denominan caldos y contienen los nutrientes en solución acuosa.

b) Sólidos: Se preparan añadiendo un agar a un medio líquido (caldo) a razón de 15g L⁻¹. El agar es una sustancia inerte polisacárida (hidrato de carbono) que se extrae de las algas. Como esta sustancia no es digerida por las bacterias no constituye ningún elemento nutritivo. Este conjunto convenientemente esterilizado puede ser vertido en placas de Petri

o en tubos de ensayo y presentan la posibilidad de aislar y diferenciar bacterias, "procesos que antes no eran posibles en medio líquido".

c) **Semisólidos:** Contienen 7,5 g de agar/litro de caldo. Se utilizan para determinar la motilidad de las especies en estudio. Actualmente se encuentran disponibles comercialmente con el agregado de agar (Ramírez, 2014).

2.2.5.3 Componentes del Medio

En la actualidad existen innumerables formulaciones cada una de las cuales contiene entre 15 y 35 compuestos químicos que suministran.

- a) Fuentes de Carbono
- b) Nutrientes minerales
- c) Carbono
- d) Nutrimientos minerales
- e) Vitaminas
- f) Agente gelificante en caso de los Medios semi sólidos
- g) Sustancias reguladoras del crecimiento
- h) Otros componentes (Cabrera, 2012).

2.2.5.4. Sales basales

Los denominados medios basales, usualmente incluyen sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas y aminoácidos; comercialmente se consiguen elaborados como: Murashige and Skoog, se puede pesar cada uno de sus componentes y elaborarlo en el laboratorio. Los requerimientos nutritivos para un crecimiento in vitro óptimo varían con la especie, e incluso son específicos de acuerdo a la parte de la planta que se esté cultivando y a la respuesta que se desea obtener (Caravia, 2013).

2.2.5.5. Reguladores de crecimiento

Los reguladores del crecimiento vegetal son sustancias que actúan sobre el desarrollo de las plantas y que, por lo general, son activas a concentraciones muy pequeñas. Dentro de este grupo de moléculas podemos diferenciar entre las que son producidas por la planta y aquellas de origen sintético. Las que se encuentran de forma natural en las plantas se denominan fitohormonas u hormonas vegetales (CANNA, 2016).

2.2.5.6. Vitaminas

Las vitaminas son sustancias orgánicas, con carbono, imprescindibles en los procesos metabólicos que tienen lugar en la nutrición de los seres vivos. La mayor parte de las plantas sintetizan casi todas las vitaminas esenciales, pero aparentemente lo hacen en cantidades infraóptimas y para lograr un buen crecimiento es necesario a menudo suplementar al medio con una o más vitaminas.

- ✓ La tiamina (B1) es la que más se utiliza y se la considera un ingrediente esencial, otras vitaminas como la pirodoxina (B6), ácido nicotínico (B3), pantotenato cálcico (B5) también han demostrado tener un efecto positivo en el crecimiento in vitro.
- ✓ La Tiamina (B1), es un componente esencial de las coenzimas que catalizan la oxidación del ácido pirúvico en el ciclo respiratorio. Sin esta vitamina las células no pueden realizar sus funciones vitales.
- ✓ La Riboflavina (B2), es necesaria para el crecimiento de las raíces y funciona reduciendo la cantidad de auxina del sistema radicular. Una gran cantidad de esta hormona inhibe el crecimiento de la raíz.
- ✓ La Niacina (B3), desempeña un papel importante en la respiración porque es un componente de las coenzimas I y II, que son grupos portadores de hidrógeno en la fase respiratoria de deshidrogenación (Caravia, 2013).

2.2.6. Factores ambientales

Los cultivos de tejidos vegetales deben mantenerse en unas condiciones ambientales apropiadas para su mantenimiento, tratando de reproducir las condiciones naturales más favorables. La luz interesa en distintos aspectos: la intensidad, el fotoperiodo y la calidad espectral. La luz es necesaria, no tanto para la fotosíntesis de los tejidos que, si se produce, es en muy baja proporción, sino para la foto-morfogénesis tenga lugar y se produzcan brotes de aspecto normal. Los cultivos sometidos a intensidades de luz muy altas o muy bajas no muestran buen crecimiento. Intensidades de 1000 a 3000 lux (unos 35 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) son suficientes para un desarrollo normal (Paliz, 2012).

El fotoperiodo es importante ya que responden a los cambios de duración del día con el crecimiento o el reposo, así que para el cultivo in vitro es conveniente proporcionar luz durante largos periodos generalmente de 16 horas. Aunque la calidad de la luz puede determinar diferentes respuestas morfogénicas por medio del fitocromo, la experiencia demuestra que la luz de tubos fluorescentes de luz blanca, pobre en longitudes de onda larga, es suficiente para obtener buenos crecimientos.

La temperatura se regula en torno a los 22-25°C, pero durante el período iluminado, en el interior de los frascos de cultivo es ligeramente superior (2 grados) debido al efecto invernadero, creando un termoperíodo suave aun manteniendo la temperatura constante en la cámara de cultivo. En el interior de los frascos de cultivo se mantiene una alta humedad relativa, cercana a la saturación, debido a las condiciones de estanqueidad casi total necesarias para mantener la asepsia, y que solo permiten un cierto intercambio gaseoso, creando un ambiente favorable para el crecimiento y la multiplicación de los brotes, aunque después deban sufrir adaptaciones para poder ser trasplantadas al exterior (George, Hall, & Jan de Klerk , 2008).

2.2.7. Establecimiento del cultivo

El inicio del cultivo es una fase muy delicada en la que la porción de tejido vegetal que sirve de inóculo (explante) debe sobrevivir al aislamiento del resto de la planta original y

comenzar el crecimiento *in vitro*. El medio de cultivo debe proporcionar al explante todo lo que necesita para vivir y desarrollarse.

Dos factores son particularmente importantes en el establecimiento del cultivo: el explante y la esterilización (Paliz, 2012).

- ✓ **Explante:** La elección de un explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos, en primera instancia, dicha elección está determinada por el objetivo perseguido y también por la especie que se va a utilizar para la investigación.

Es muy frecuente la utilización de ápices o meristemas caulinares, hojas, entrenudos, cotiledones, raíces, anteras e inclusive tejidos altamente diferenciados como los provenientes de frutos.

El tamaño del explante es otro aspecto importante que debe ser tomado en cuenta para el establecimiento de cultivos, cuanto más grande sea, mayores serán las posibilidades de obtener proliferación callosa, aunque ello trae aparejadas mayores probabilidades de heterogeneidad y de contaminación con microorganismos (Mroginki & Roca, 2012).

- ✓ **Esterilización:** Una vez tomados los explantes y antes de ser introducidos en el medio de cultivo hay que eliminar todas las esporas de hongos y bacterias que tienen en su superficie. El grado de esterilización necesario dependerá del estado de la planta madre. (Ver anexo 2). Si partimos de plantas crecidas en el exterior, la presencia de gérmenes será mayor que si se han cultivado en invernadero, con cuidados como el no mojar la parte aérea al regar y con tratamientos fitosanitarios adecuados. En cualquier caso, la humedad siempre favorece el desarrollo de hongos que posteriormente afectarán al cultivo (George, Hall, & Jan de Klerk, 2008).

Un procedimiento habitual para desinfectar el material tomado de las plantas madre consiste en el lavado en agua corriente (30-60 minutos) seguido de inmersión en una solución de hipoclorito cálcico o sódico durante 20-40 min (según el material) con una concentración de cloro activo de 5g L⁻¹ a la que se añade unas gotas de un

agente humectante (Tween 20) para reforzar su acción frente a la capa de ceras y cutícula de la epidermis. El resto de las manipulaciones (los aclarados y la introducción del explante en el medio) han de desarrollarse en la cámara de flujo laminar en condiciones asépticas.

Tras la desinfección con hipoclorito hay que aclarar con abundante agua destilada estéril (3 a 5 baños) para eliminar los restos y evitar que dañen más el explante, retirar las partes dañadas con un bisturí reduciendo el explante al tamaño deseado y por fin introducirlo en un tubo de ensayo con medio de cultivo, conservando la polaridad (parte apical hacia arriba), de forma que no quede totalmente cubierto por el medio. A veces es útil sumergir el material en etanol durante 10-30 segundos, antes de la inmersión en hipoclorito, para disolver las ceras cuticulares y permitir la acción posterior del cloro sobre la superficie (Mroginki & Roca, 2012).

2.3.1. Almidón

El almidón es un carbohidrato compuesto por un alto número de unidades de glucosa que conforman la molécula. Este es probablemente el polisacárido más abundante y se encuentra en los cereales, los tubérculos y en algunas frutas como por ejemplo el plátano (Castells, 2009).

El almidón químicamente está compuesto por una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina. La amilosa es una molécula lineal y la amilopectina se diferencia por ser una molécula ramificada que le da una forma molecular similar a la de un árbol. Los almidones contienen aproximadamente de un 17 a un 27 % de amilosa y el resto de amilopectina. Algunos cereales como el maíz, el sorgo y el arroz tienen variedades llamadas céreas que están compuestas en su mayor parte por amilopectina, existen otras que poseen hasta más del 90% de amilosa, además el almidón de la quínoa se presenta en forma de pequeños granos que se disgregan fácilmente; su color es blanco mate y después de molido y tamizado adquiere la consistencia de un polvo finísimo, inodoro y a veces ligeramente amargo (Calvo , 2011).

2.3.2. Tipos de almidón

Los almidones son mezclas de amilosa y de amilopectina. En general, los almidones contienen entre el 20% y el 30% de amilosa, aunque existen excepciones. En el maíz céreo, llamado así por el aspecto del interior del grano, casi no existe amilosa, mientras que en las variedades amiláceas representa entre el 50% y el 70%. En el caso de la patata, la presencia de grupos fosfato crea repulsiones entre cargas negativas, lo que facilita la separación de las cadenas y su interacción con el agua.

Las propiedades tecnológicas del almidón dependen mucho del origen, y de la relación amilosa/amilopectina, tanto cuando forma parte de un material complejo (harina) como cuando se utiliza purificado, lo cual es muy frecuente. Así, el almidón del maíz céreo produce geles claros y cohesivos, mientras que el almidón de arroz forma geles opacos. El almidón de patata (conocido genéricamente como "fécula") y el de mandioca (tapioca) se hidratan muy fácilmente, dando dispersiones muy viscosas, pero en cambio no producen geles resistentes (Calvo , 2011).

2.3.3. Almidón de quínoa

La quínoa es uno de los alimentos más nutritivos del mundo. Contiene proteínas de alta calidad, ricas en aminoácidos esenciales, como lisina, metionina y treonina, que son escasas en los cereales y las leguminosas. Es rica en importantes vitaminas (A, B2 y E) y minerales (calcio, hierro, cobre y zinc); en particular, su alto contenido de hierro la convierte en una herramienta valiosa de los esfuerzos para reducir la anemia en el mundo. Además, el 89% de sus ácidos grasos son no saturados (Mujica & Jacobsen, 2004).

Además, contiene saponinas, antocianinas, flavonoides, aceites esenciales, ácido fítico, taninos entre otros, las saponinas de la quínoa son de estructura triterpenoide y se ha demostrado que la principal sapogenina es el ácido oleanólico. Otras moléculas encontradas en la quínoa son: sapogenoles, hederagenina, y ácido fitolacagénico (Bermúdez, 2017).

2.3.4. Características del almidón de quínoa

Está considerado como un superalimento al aportar mucha proteína vegetal de alta calidad biológica, grasas poliinsaturadas ricas en omega-3, hidratos de absorción lenta, mucha fibra y multitud de vitaminas y minerales.

Los micronutrientes, en el almidón de quínoa destaca el contenido de potasio, magnesio, calcio, fósforo, hierro y zinc entre los minerales, mientras que también ofrece vitaminas del complejo B en cantidades apreciables y vitamina E con función antioxidante. (Vitónica, 2013)

Composición nutricional por 100 g de almidón de quínoa.

Tabla 1. Composición nutricional del almidón de quínoa

| Composición | Cantidad (g) | CDR(%) |
|----------------------|---------------------|---------------|
| Kcalorías | 368 | 19.2% |
| Carbohidratos | 68.9 | 22.2% |
| Proteínas | 13.1 | 27.4% |
| Fibra | 7 | 23.3% |
| Grasas | 5.8 | 10.9% |

FUENTE: (FAO, 2013)

Tabla 2. Minerales del almidón de quínoa

| Minerales | Cantidad (mg) | CDR(%) |
|------------------|----------------------|---------------|
| Sodio | 11.5 | 0.7% |
| Calcio | 127 | 10.6% |
| Hierro | 12 | 150% |
| Magnesio | 0 | 0% |
| Fósforo | 387 | 55.3% |
| Potasio | 697 | 34.9% |

FUENTE: (FAO, 2013)

Tabla 3. Vitaminas del almidón de quínoa

| Vitaminas | Cantidad (mg) | CDR(%) |
|------------------|----------------------|---------------|
| Vitamina A | 0.3 | 33.3% |
| Vitamina B1 | 0.3 | 25% |
| Vitamina B2 | 0.3 | 23.1% |
| Vitamina B3 | 0.7 | 0% |
| Vitamina B12 | 0 | 0% |
| Vitamina C | 0 | 0% |

FUENTE: (FAO, 2013)

2.3.5. Almidón de banano

El almidón de banano posee un alto contenido en carbohidratos complejos de digestión lenta, fibra alimentaria y almidón resistente. Fuente de fibra, vitaminas, minerales, calcio y magnesio. Contiene Vitamina B6, esencial para que funcionen bien las enzimas (proteínas que regulan los procesos químicos del cuerpo). Enriquecida con micronutrientes como hierro, ácido fólico, vitamina C, vitamina A y zinc (Villegas, 2012).

2.3.6. Valor nutritivo del almidón de banano

Tabla 4. Valor nutritivo del almidón de banano

| NUTRIENTES | |
|----------------------|---------|
| Proteínas | 3.1 g |
| Grasas | 0.4 g |
| Carbohidratos | 9.6 g |
| Ceniza | 2.5 g |
| Humedad | 14.0 g |
| MINERALES | |
| Calcio | 29.0 g |
| Fósforo | 104.0 g |
| Hierro | 3.9 g |
| VITAMINAS | |
| Retinol | 100 g |
| Tiamina | 0.11 g |
| Riboflavina | 0.12 g |
| Niacina | 1.57 g |

FUENTE: (Hernández A. , 2012)

2.3.7 Almidón soluble de papa

La papa es un alimento, muy nutritivo que desempeña funciones energéticas debido a su alto contenido en almidón, así como funciones reguladoras del organismo por su elevado contenido en vitaminas hidrosolubles, minerales y fibra. Además, tiene un contenido no despreciable de proteínas, presentando éstas un valor biológico relativamente alto dentro de los alimentos de origen vegetal (Talentos para la vida, 2017).

2.3.7 Valor nutritivo del almidón soluble de papa

Nutrientes del almidón soluble de papa por 100 gramos.

Tabla 5. Nutrientes del almidón soluble de papa

| Nutrientes | Cantidad |
|--------------------------------|-----------------|
| Energía (kcal) | 333 |
| Proteína (mg L ⁻¹) | 0.10 |
| Grasa total (g) | 0.20 |
| Colesterol (mg) | - |
| Glúcidos | 80.30 |
| Fibra (g) | 0.10 |
| Calcio (mg) | 11 |
| Hierro (mg) | 0.70 |

FUENTE: (Fundación Universitaria Iberoamericana, 2017)

2.4.1. Origen e importancia de la papa.

Originaria del Altiplano cerca del Lago Titicaca (sudeste de Perú) hace 8 mil años, fue llevada a España a mediados del siglo VXI, y durante los dos siglos siguientes al resto de

Europa y más allá. Durante ese tiempo, se desarrollaron variedades de maduración precoz adaptadas a las condiciones del norte, especialmente a días más cortos.

En la actualidad, la papa (*Solanum tuberosum L.*) es el cultivo de raíces y tubérculos más importante en el mundo. Se siembra en más de 125 países y de más de un billón de personas alrededor del mundo la consumen. Se ha convertido en la mejor fuente de carbohidratos de la dieta de los pobladores de muchos países en desarrollo (Chávez, 2008).

2.4.2. Cultivar papa Superchola

El cultivo de papa Superchola (Ver anexo 1) fue mejorado por el Sr. Germán Bastidas Vaca, agricultor del cantón Montufar, Carchi; esta nueva variedad fue liberada y entregada en 1983 a los agricultores de la provincia del Carchi, para difundirse posteriormente al resto del país (Piedra, 2014).

Son plantas de crecimiento erecto que pertenecen a la subespecie *andigena*, que poseen numerosos tallos verdes con pigmentación púrpura, bien desarrollados, robustos, fuertes y pubescentes, que tienen la presencia de alas rectas y onduladas, además de nudos sobresalientes; las hojas son de tipo abierto, de color verde intenso, tienen tres pares de folíolos primarios con un folíolo terminal, además de tres pares de folíolos secundarios entre folíolos y cinco pares de folíolos terciarios o interhojuelas sobre los pecíolos, el follaje es frondoso de desarrollo rápido con hojas medianas que cubren bien el terreno; las flores son de color morado; sus brotes medianos, de forma oval, color rojo morado, yema terminal pequeña semiabierta, poseen bastante brotillas y yemas laterales semilargas; los tubérculos son medianos, elípticos a ovalados de piel rosada y lisa con crema alrededor de los ojos, pulpa amarilla pálida sin pigmentación y ojos superficiales (INIAP, 2011).

2.4.3. Clasificación Taxonómica del cultivo de papa (*Solanum Tuberosum L.*)

La planta de la papa es una dicotiledónea herbácea anual, que pertenece a la familia de las Solanáceas. Alcanza una altura entre 40 y 80 cm, presenta un ciclo vegetativo que varía de

90 a 180 días, la floración se presenta a los 92 días y tiene un rango de duración de 30 días; está considerada como planta C3 o ciclo de Calvin-Benson (Alvarez, 2002).

Tabla 6. Clasificación Taxonómica de la papa

| | |
|----------|----------------|
| REINO | Plantae |
| SUBREINO | Embryophyta |
| DIVISIÓN | Espermatophyta |
| TIPO | Angiospermae |
| CLASE | Dicotyledoneae |
| SUBCLASE | Gamopétala |
| ORDEN | Tubiflora |
| FAMILIA | Solanaceae |
| GÉNERO | Solanum |
| ESPECIE | Tuberosum |

FUENTE: (Rodríguez, 2009)

2.4.4. Producción de Semilla de papa

En los últimos años la disponibilidad se ha visto altamente limitada, situación que ha generado diversos inconvenientes entre sus productores, restringiendo principalmente el desarrollo productivo de este cultivo.

Entre los principales efectos que tiene dicha escasez se encuentran:

- ✓ Dificultad para obtener rendimientos comerciales y calidad del producto final papa.
- ✓ Contaminación de predios con enfermedades cuarentenarias, por uso de papa consumo como semilla traída desde el área sucia.
- ✓ Informalidad en el rubro, al no disponer de una semilla legal que acredite sanidad y pureza varietal (Méndez, 2016).

2.4.5. Tipos de Semilla de papa

En la normativa legal se establecen dos tipos de semilla, la semilla de papa certificada y la semilla corriente, cada una con distintas exigencias y cualidades.

- ✓ **Semilla certificada:** Da garantía de un material producido por una estación experimental o un productor autorizado, sometido a un riguroso proceso productivo y que además fue supervisado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), quien certifica su pureza varietal y calidad fitosanitaria.

- ✓ **Semilla corriente:** Es un material que no presenta la misma calidad de una semilla certificada. Entre las exigencias para producir semilla corriente destacan inscripción del semillero, informe de pureza varietal y porcentaje de virosis e informe de producción. En su proceso productivo no existe una supervisión oficial, pese a ello resulta una alternativa de semilla legal, dado que, de igual forma resguarda a los productores que adquieren un material de este tipo (Méndez, 2016).

2.4.6. Calidad de Semilla

La calidad de papa semilla está dada por tres parámetros que son: identidad y pureza varietal, calidad fitosanitaria y edad fisiológica.

- ✓ **Identidad y pureza varietal:** Implica por un lado que el material propagado presenta características que lo identifican, como: color de pulpa, color de piel, forma de tubérculo, precocidad, rendimiento, resistencia a enfermedades. Además, todos los tubérculos de este material deben ser homogéneos para asegurar pureza varietal.

- ✓ **Calidad Fitosanitaria:** El tubérculo papa, es un órgano vegetal que presenta un alto porcentaje de agua (75%) y almidón (azúcares), siendo de esta forma un medio importante para la proliferación de microorganismos causantes de enfermedades, como hongos, virus y bacterias. Para prevenir estos problemas los productores deben renovar su semilla como mínimo cada 3 temporadas por una semilla de calidad.

Uno de los principales problemas fitosanitarios en producción de papa semilla es la relación con las enfermedades virales que pueden afectarla.

- ✓ **Edad fisiológica:** Guarda relación con el ciclo del tubérculo semilla y establece la edad apropiada para que éste sea plantado. Su estado ideal es cuando los tubérculos han finalizado su período de dormancia y presentan un estado de brotación múltiple. Esto permitirá que se emita una mayor cantidad de brotes que se transformarán en tallos verdaderos, con raíces y estolones que generarán finalmente tubérculos (Méndez, 2016).

2.4.4. Morfología de la planta

Reinoso, (2009) Detalla la morfología de la planta de papa de la siguiente manera:

La papa (*Solanum tuberosum L.*) pertenece a la familia de las solanáceas. Es una planta dicotiledónea. Su cultivo se haya extendido por todo el mundo a excepción de los países tropicales.

La papa es planta herbácea anual. Sus raíces son muy ramificadas, finas y largas, dependiendo su desarrollo de que el suelo esté o no mullido.

- ✓ El tallo, grueso, fuerte, anguloso, con una altura que varía entre 0,5 y 1 m, se origina en las yemas del tubérculo. Las hojas son imparipinnadas. Consta de nueve o más foliolos, cuyo tamaño es tanto mayor cuanto más alejados se encuentran del nudo de inserción.
- ✓ El fruto es una baya redondeada de color verde, que se vuelve amarilla al madurar
- ✓ Brote: El brote es un tallo que se origina en el “ojo” del tubérculo. El tamaño y apariencia del brote varía según las condiciones en los que se ha almacenado el tubérculo.
- ✓ Tallo: La planta de papa es un conjunto de tallos aéreos y subterráneos.
- ✓ Tallos aéreos: El tallo principal se origina del brote del tubérculo semilla. El tallo secundario se origina de una yema subterránea del tallo principal. El tallo

estolonífero se origina de un estolón que toma contacto con la luz. La rama se origina de una yema aérea del tallo principal. Los elementos del tallo aéreo son: nudo, ala y entrenudo.

- ✓ Tallos subterráneos: Los tallos son angulares, generalmente verdes, aunque pueden ser de color rojo púrpuro; son herbáceos aún en etapas avanzadas de desarrollo, la parte inferior puede ser relativamente leñosa. Las raíces y estolones se desarrollan a partir del tallo subterráneo, entre el tubérculo-semilla y la superficie del suelo.
- ✓ Raíz: Es la estructura subterránea responsable de la absorción de agua. Se origina en los nudos de los tallos subterráneos y en conjunto forma un sistema fibroso.
- ✓ Hoja: Estructura que sirve para captar y transformar la energía lumínica (luz solar) en energía alimenticia (azúcares y almidones).
- ✓ La flor: Es la estructura aérea que cumple funciones de reproducción sexual. Las flores se presentan en grupos que conforman la inflorescencia: cáliz, corola, columna de anteras, estigma, botón floral, pedicelo superior, pedicelo inferior, flor, pedúnculo floral.
- ✓ El fruto y la semilla: el fruto o baya de la papa se origina por el desarrollo del ovario. La semilla, conocida también como semilla sexual, es el óvulo fecundado, desarrollado y maduro. El número de semillas por fruto puede variar desde cero (nada) hasta 400. Cada semilla tiene la facultad de originar una planta que, adecuadamente aprovechada, puede producir cosechas satisfactorias

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La presente investigación es cuali-cuantitativa, porque se evaluaron tres tipos de medios de cultivo M&S enriquecidos con: almidón soluble de papa, almidón de quínoa y almidón de banano, para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola, mediante dos dosificaciones, baja de 25g L⁻¹ y dosis alta de 75g L⁻¹, además del experimento se evaluó características como: número de hojas, número de raíces, número de nudos, altura (cm).

3.1.2. Tipo de Investigación

La presente investigación es bibliográfica, ya que consistió en la recolección y compilación de información por medio de lectura, crítica de documentos y materiales bibliográficos, de bibliotecas, hemerotecas y centros de documentación e información.

Investigación aplicada porque se centró en la resolución de un problema determinado, es decir, la utilización de conocimientos, desde una o varias áreas especializadas, con el propósito de implementarlos de forma práctica, proporcionando una solución al problema detallado.

Investigación experimental, puesto que se realizó en un ambiente bajo condiciones controladas.

3.2. HIPÓTESIS

H₁: Existen diferencias significativas entre los medios de cultivo establecidos para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.

H₀: No existen diferencias significativas entre los medios de cultivo establecidos para la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum L.*) variedad Superchola.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 Población

Cuenta con 21 unidades experimentales, las cuales se implantaron en el laboratorio en una cámara de crecimiento bajo condiciones controladas, evaluando el mejor medio para la micropropagación de papa variedad Superchola.

3.3.2. Las características del ensayo

El ensayo consta de 7 tratamientos con 3 repeticiones, el cual contiene 21 unidades experimentales y en cada unidad experimental 5 tubos de ensayo.

Tabla 7. Características del ensayo

| Ensayo Total | |
|-------------------------|---|
| Tratamientos | 7 |
| Repeticiones | 3 |
| Unidades experimentales | 21 |
| Factor 1 | Almidón soluble de papa Almidón de quínoa Almidón de banano |
| Factor 2 | Dosis |
| Dosis 1 | 25g L ⁻¹ |
| Dosis 2 | 75g L ⁻¹ |

Elaborado por: Autora

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 8. Definición y operacionalización de variables

| Hipótesis | Variable | Definición conceptual | Dimensión | Indicadores | Técnica | Instrumento |
|--|---|--|-------------------------|---|-------------|--|
| Existen diferencias significativas entre los tres diferentes medios de cultivos que evalúan la micropropagación papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) variedad Superchola. | Variable Dependiente: Explantes de papa Superchola (<i>Solanum tuberosum</i> L.) | Tejido vivo separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento. | Altura | Se midió semanalmente con una hoja milimetrada desde la superficie del medio de cultivo hasta el ápice del explante, expresada en (cm) centímetros. | Observación | Hoja milimetrada Regla Cámara fotográfica Libreta de anotaciones. |
| | | | Número de nudos | Se realizó el conteo por cuatro semanas desde que aparece el primer nudo | Observación | Lupa Cámara fotográfica Libreta de anotaciones. |
| | | | Número de hojas | Se contabilizo el número de hojas por cuatro semanas, desde la aparición de las mismas. | Observación | Lupa Cámara fotográfica Libreta de anotaciones. |
| | | | Número de raíces | Se evaluó un conteo de las raíces secundarias visibles en los medios de cultivos, semanalmente desde su aparición. | Observación | Lupa Cámara fotográfica Libreta de anotaciones. |

| | | | | | | |
|--|---|---|---|--|--------------------|---|
| | <p>Variable Independiente:</p> <p>MS+Almidón de quínoa. MS +Almidón de banano. MS + Almidón soluble de papa.</p> | <p>Almidón de quínoa: Es una estupenda fuente de hierro, tiene presencia de saponina.</p> <p>Almidón de banano: Aporta potasio, magnesio, vitamina B9 (ácido fólico), sustancias astringentes y fibras.</p> <p>Almidón soluble de papa: Mejoran la textura, impartir viscosidad, ligar agua, proveer cohesión, y mantener la tolerancia al proceso</p> | <p>Dosificación</p> <p>Almidón de quínoa. Almidón de banano. Almidón soluble de papa.</p> | <p>En el mes de octubre se dosificó el medio de cultivo MS, con el almidón soluble de papa, quínoa y banano, en dosificación baja y alta.</p> <p>Dosis baja: 25g L⁻¹ Dosis alta: 75g L⁻¹</p> | <p>Observación</p> | <p>Pipetas. Cámara Fotográfica. Libreta de anotaciones.</p> |
|--|---|---|---|--|--------------------|---|

Elaborado por: **Autora**

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Localización del ensayo

La investigación se realizó la Provincia del Carchi, Cantón, Tulcán, con una altitud 2962 msnm, con las siguientes coordenadas geográficas: latitud: 0°48'42" N y longitud: 77°43'02" O

Establecido específicamente en el laboratorio 202 (Lab. De biotecnología y microbiología) pertenecientes a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi; el cual estuvo en una cámara de crecimiento con 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, a una temperatura de 22 – 25°C.

3.4.2. Preparación de los medios de cultivo

Para la preparación de los medios de cultivos establecidos en la investigación se siguió el protocolo utilizado por el INIAP (2018). (Ver anexo 3)

3.4.2.1. Preparación Murashige & Skoog

- En 375ml de agua destilada se disolvió 3,3gr del medio de Murashige & Skoog (SIGMA 5519), con vitaminas.
- Se adicionó 22,5 gr de Sacarosa y se colocó en el agitador.
- Se llevó el volumen hasta los 750 ml con agua destilada.
- Se midió el pH y ajustar a 5,7 se realizó el ajuste con de pH con ácido acético al 10%.
- Se adicionó 6 gramos de agar, se debe de colocar cuando este caliente, agitar y colocar en el microondas por 7 minutos evitando que hierva.
- Se colocó el medio en los tubos ensayos 5 ml por tubo de ensayo, envolver en fundas plásticas, previamente membretados y llevarlos a la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión por 20 minutos.

3.4.2.2. Preparación Murashige & Skoog enriquecido con almidón de quínoa 25g/L y 75/L

- En 375ml de agua destilada se disolvió 3,3gr del medio de Murashige & Skoog (SIGMA 5519), con vitaminas.
- Se adicionó 18,75 gr de almidón de quínoa para la dosificación de 25g/L y se colocó en el agitador.
- Se adicionó 56,25 gr de almidón de quínoa para la dosificación de 75g/L y se colocó en el agitador.
- Se llevó el volumen hasta los 750 ml con agua destilada.
- Se midió el pH y ajustar a 5,7 se realizó el ajuste con de pH con ácido acético al 10%.
- Se adicionó 6 gramos de agar, se debe de colocar cuando este caliente, agitar y colocar en el microondas por 7 minutos evitando que hierva.
- Se colocó el medio en los tubos ensayos 5 ml por tubo de ensayo, envolver en fundas plásticas, previamente membretados y llevarlos a la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión por 20 minutos.

3.4.2.3. Preparación Murashige & Skoog enriquecido con almidón de banano 25g/L y 75g/L

- En 375ml de agua destilada se disolvió 3,3gr del medio de Murashige & Skoog (SIGMA 5519), con vitaminas.
- Se adicionó 18,75 gr de almidón de banano para la dosificación de 25g/L y se colocó en el agitador.
- Se adicionó 56,25 gr de almidón de banano para la dosificación de 75g/L y se colocó en el agitador.
- Se llevó el volumen hasta los 750 ml con agua destilada.
- Medir el pH y ajustar a 5,7 se realizó el ajuste con de pH con ácido acético al 10%.
- Se adicionó 6 gramos de agar, se debe de colocar cuando este caliente, agitar y colocar en el microondas por 7 minutos evitando que hierva.

- Se colocó el medio en los tubos ensayos 5 ml por tubo de ensayo, envolver en fundas plásticas, previamente membretados y llevarlos a la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión por 20 minutos.

3.4.2.4. Preparación Murashige & Skoog enriquecido con almidón de papa soluble 25g/L y 75g/L

- En 375ml de agua destilada se disolvió 3,3gr del medio de Murashige & Skoog (SIGMA 5519), con vitaminas.
- Se adicionó 18,75 gr de almidón de papa soluble para la dosificación de 25g/L y se colocó en el agitador.
- Se adicionó 56,25 gr de almidón de papa soluble para la dosificación de 75g/L y se colocó en el agitador.
- Se llevó el volumen hasta los 750 ml con agua destilada.
- Se midió el pH y ajustar a 5,7 se realizó el ajuste con de pH con ácido acético al 10%.
- Se adicionó 6 gramos de agar, se debe de colocar cuando este caliente, agitar y colocar en el microondas por 7 minutos evitando que hierva.
- Se colocó el medio en los tubos ensayos 5 ml por tubo de ensayo, envolver en fundas plásticas, previamente membretados y llevarlos a la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión por 20 minutos.

3.4.3. Colecta del material vegetal

En el cantón Tulcán, se obtuvo la semilla de papa variedad Superchola, de una cosecha realizada, la cual se adquieren los explantes para la realización del ensayo.

3.4.4. Tratamiento del material vegetal

Se realizó un lavado con agua corriente a la semilla para eliminar alguna suciedad al momento de la cosecha y en la transportación, la semilla fue colocada en bandejas plásticas y en un lugar oscuro para que de esta forma empiece a germinar y sea utilizada para el ensayo, revisando periódicamente para evitar cualquier ataque de insectos.

3.4.5. Recolección de explantes

Los explantes que se utilizaron para la investigación, fueron los brotes provenientes de la semilla de papa, variedad Superchola. Los cortes se realizaron con un cuchillo previamente desinfectado en alcohol al 96%, esta desinfección se llevaba a cabo de cada corte. El explante final terminaba aproximadamente con un tamaño de 1 cm. Las partes necróticas fueron extraídas y desechadas.

3.4.6. Desinfección de los explantes

Para la desinfección de los explantes se aplicó como referencia al proceso de desinfección indicado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 2018).

Se esterilizó en la autoclave (120 °C, 20 min., 1 kg cm⁻²) agua destilada en botes de cristal cerrados con tapa metálica.

Por lo tanto, una vez ya obtenidos los explantes a utilizar, se realizó un lavado con agua corriente, se añadió dos gotas solución de jabón (detergente, o jabón líquido) en un litro de agua y se agitó por media hora, es preferible utilizar un agitador magnético para que la limpieza se realice de forma homogénea.

Se realizó un lavado con una solución de fungicidas Phyton y Benomil de los cuales se añadió 1ml x 100ml de agua autoclavada esterilizada, se dejó 45 minutos para que se elimine la mayor cantidad de suciedad y de microorganismos, luego del tiempo transcurrido se procede hacer enjuagues con agua estéril.

Se sumergieron los explantes en la solución de etanol al 70%, durante 1 minuto, se pasó todo el material a la solución de NaClO al 1% con las dos gotas del Tween 20, se mantuvo por 15 minutos en una agitación constante.

Concentraciones de NaClO y tiempos orientativos:

- Hojas delicadas, pétalos: 0,5%, 5 – 10 min.
- Tallos, hojas, yemas (no muy sucios): 0,5% - 0,7%, 10 – 15 min.
- Tallos, yemas, semillas (más sucios): >0,7%, 15 – 20 min.

Posteriormente de los pasos señalados anteriormente, los explantes fueron trasladados a la cámara de flujo laminar previamente desinfectada como se indican en los protocolos de la misma, en la cual se realizaron tres aclarados con agua destilada estéril (2, 5, 15 min. respectivamente). Si se desea en el último aclarado se puede dejarlos por más tiempo.

Se eliminó toda el agua de los aclarados, se utilizaron placas Petri estériles como soporte para cortar los explantes, se eliminó los extremos que han sido dañados por la solución de NaClO.

Los explantes fueron colocados en el medio de cultivo, con la ayuda de pinzas y de un bisturí estéril y en cada aplicación esterilizados en alcohol y con el mechero, cerciorándose de que hay contacto entre ambos.

3.4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Diseño experimental:

Se utilizó un modelo de ADEVA del tipo mixto de muestras repetidas en el tiempo (MRT), homogeneizando las unidades experimentales en laboratorio; para realizar las observaciones.

Modelo Matemático

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \pi_{j(i)} + \beta_k + \alpha\beta_{ik} + \beta\pi_{kj(i)} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

α_i : corresponde al efecto del grupo (con $i= 1, 2$ correspondiendo al control y tratamiento; respectivamente).

$\pi_{j(i)}$: al efecto del sujeto j ($j= 1, 2, 3, \dots$) del grupo i (indicamos entre paréntesis que cada sujeto está exclusivamente – anidado – en un grupo i).

β_k : es el efecto del tiempo ($k = 1, 2, 3, \dots$)

$\alpha\beta_{ik}$ y $\beta\pi_{kj(i)}$: son las interacciones entre factores.

ε_{ijk} : error experimental.

Descripción:

Tipo de Diseño: Muestras Repetidas en el Tiempo (MRT).

FACTOR EN ESTUDIO:

Factor A: Medios de cultivo.

Niveles: 7

a1: MS_{5cc}, **a2:** MS + AQ_{25cc}, **a3:** MS + AQ_{75cc}, **a4:** MS + AB_{25cc}, **a5:** MS + AB_{75cc}, **a6:** MS + AP_{25cc}, **a7:** MS + AP_{75cc}. (Tabla 6)

Número de tratamientos: 7

Número de repeticiones: 3

3.4.8. Variables evaluadas en el ensayo

Los resultados obtenidos fueron evaluados en forma semanal durante cuatro semanas, en función a las siguientes variables:

3.4.8.1. Número de nudos

Evaluado por observación directa, indica el número que se podrán desarrollar en la siguiente etapa de multiplicación.

3.4.8.2. Número de hojas

Evaluadas por observación directa en forma semanal a partir de su emergencia.

3.4.8.3. Número de raíces

Evaluadas por observación directa a partir de la presencia de las mismas.

3.4.8.4. Altura de vitroplanta

Desarrollo semanal del ápice; expresado en centímetros (cm), desarrollo longitudinal alcanzado una vez implantado el brote en el medio de cultivo, evaluado durante cuatro semanas.

Unidad experimental: Tubos de ensayo con medio de cultivo.

Contraste de Hipótesis Nula (H0) y Alternativa (HA):

H0: $H_0 \mu_1 = \mu_2 = 0$ **HA:** $H_A \mu_1 \neq \mu_2 \neq 0$

Características de la Unidad Experimental: Brotes de papa esterilizados.

Tabla 9. Cuadro de ADEVA de la investigación.

| F de V | GL |
|---|--|
| Total (T) | $(e \times r \times tr) - 1 = \mathbf{83}$ |
| Periodo (E) | $e - 1 = \mathbf{3}$ |
| Repeticiones dentro de los periodos (E>R) | $e \times (r - 1) = \mathbf{8}$ |
| Tratamientos (Tr) | $tr - 1 = \mathbf{6}$ |
| E x Tr | $(e - 1) \times (tr - 1) = \mathbf{18}$ |
| Error Experimental (EE) | $e \times (r - 1) \times (tr - 1) = \mathbf{48}$ |

F de V: Fuente de variación, GL: Grados de libertad.

Diseño de Tratamientos

Fruto de las combinaciones de las variables en estudio se formaron los tratamientos (*Tabla 6*) de Murashige & Skoog enriquecidos con los productos mencionados anteriormente, los mismos que fueron evaluados:

Tabla 9. Tratamientos evaluados en la micropropagación de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Superchola, bajo dos dosificaciones.

| SÍMBOLO | CÓDIGO | TRATAMIENTO |
|----------------|-------------------------|---|
| T ₁ | MS _{5cc} | Murashige & Skoog |
| T ₂ | MS + AQ _{25cc} | Murashige & Skoog + 25g L ⁻¹ almidón de quínoa |
| T ₃ | MS + AQ _{75cc} | Murashige & Skoog + 75 g L ⁻¹ almidón de quínoa |
| T ₄ | MS + AB _{25cc} | Murashige & Skoog + 25 g L ⁻¹ almidón de banano |
| T ₅ | MS + AB _{75cc} | Murashige & Skoog + 75 g L ⁻¹ almidón de banano |
| T ₆ | MS + AP _{25cc} | Murashige & Skoog + 25 g L ⁻¹ almidón papa soluble |
| T ₇ | MS + AP _{75cc} | Murashige & Skoog + 75 g L ⁻¹ almidón papa soluble |

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

En el ensayo establecido se evaluó la altura, número de nudos, número de hojas y el número de raíces en el establecimiento para la micropropagación de brotes de papa Var. Superchola desde junio de 2018 cuatro meses después se volvió a realizar el establecimiento del ensayo, el cual fue evaluado en cuatro semanas y la toma de datos se realizó en espacios de tiempo iguales cada semana requisito establecido por el diseño experimental utilizado, obteniendo de esta forma resultados promedios de las variables propuestas.

Luego del periodo de tiempo correspondiente se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1.1. Número de nudos

Se observó que para las fuentes de variación (F de V) etapas – semanas (E), repeticiones dentro de las etapas ($E > R$), tratamientos – soluciones (Tr), etapas por tratamientos ($E \times Tr$); resultaron altamente significativas al 0,01 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0) de medias iguales, lo que quiere decir, que existen diferencias entre las medias.

La media general fue de 12,21 nudos y el coeficiente de variación (CV) fue de 6,18 %, que es muy aceptable para este tipo de investigación.

Tabla 10. ADEVA para la variable número de nudos en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018.

| F de V | GL | SC | CM | F calc. | F tab. | | | | |
|-----------|----|-----------|--------|---------|--------|------|-------------|------|--------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | p - Valor | | |
| T | 83 | 2566,14 | | | | | | | |
| E | 3 | 63,00 | 21,00 | 5,88 | * | * | 2,80 | 4,22 | 0,0017 |
| E > R | 8 | 28,57 | 3,57 | 6,25 | * | * | 2,14 | 2,90 | 0,0000 |
| Tr | 6 | 2414,14 | 402,36 | 704,12 | * | * | 2,30 | 3,20 | 0,0000 |
| E x Tr | 18 | 33,00 | 1,83 | 3,21 | * | * | 1,79 | 2,28 | 0,0006 |
| EE | 48 | 27,43 | 0,57 | | | | | | |
| n: | 84 | x: | 12,21 | | | | CV%: | 6,18 | |

F de V: Fuente de variación, **GL:** Grados de libertad, **SC:** Sumatoria de cuadrados, **CM:** Cuadrado medio, **F cal:** Valor Fisher calculado, **F Tab:** Valor Fisher tabulado, **Valor – p:** Valor de probabilidad, **T:** Total, **E:** Periodos o etapas, **E > R:** Repeticiones dentro del periodo o etapa, **Tr:** Tratamientos, **E x Tr:** Periodos o etapas por tratamientos, **EE:** Error experimental, **n:** Numero de datos, **x:** Media general, **CV%:** Coeficiente de variación, **NS:** no significativo, * y **: significativo y altamente significativo; respectivamente.

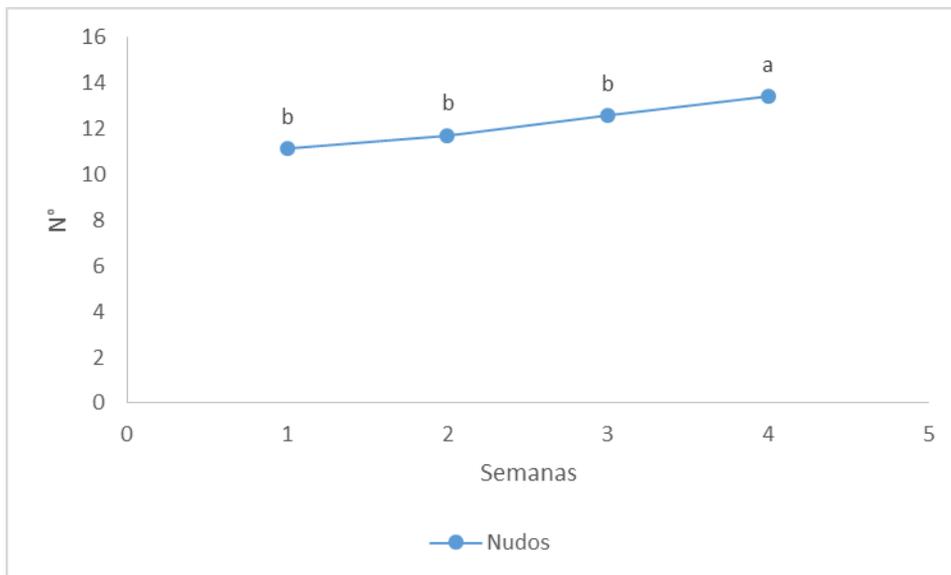


Figura 1. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de nudos por vitroplanta donde se observó que las etapas – semanas 1 – 3 comparten el mismo rango de significancia, así, la semana 1 con 11,14, seguido de la

semana 2 con 11,71 y la semana 3 con 12,57 nudos respectivamente, destacándose la semana 4 con 13,43 nudos, siendo el mayor número de nudos por vitroplanta.

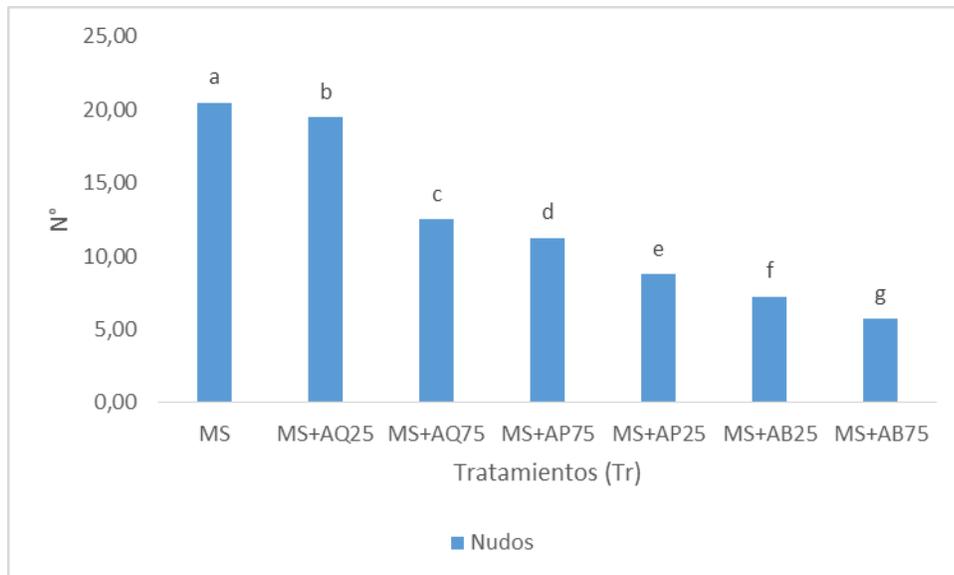


Figura 2. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de nudos por vitroplanta para la F de V tratamientos (Tr), donde se observó que los tratamientos tienen rangos diferentes, así, el tratamiento MS (testigo) se destacó con el mayor número de nudos 20,50; seguido de los tratamientos MS + AQ₂₅ con 19,50; MS + AQ₇₅ con 12,50; MS+AP₇₅ con 11,25; MS+AP₂₅ con 8,75; MS+AB₂₅ con 7,25; MS+AB₇₅ con 5,75 nudos respectivamente.

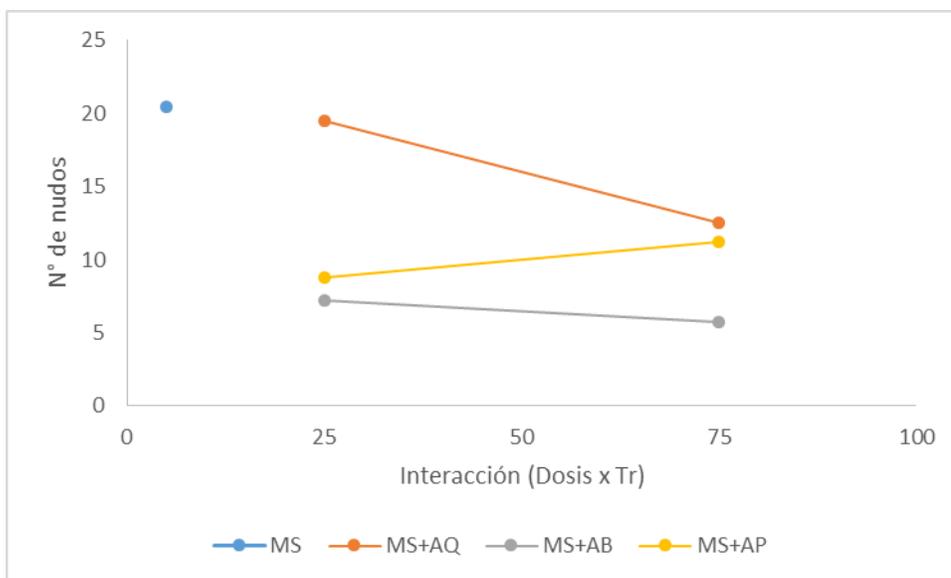


Figura 3. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán-2018.

Se observa que existen interacciones positivas y negativas entre las dosis y los tratamientos (Tr) en forma significativa, que inciden sobre la, variable número de nudos por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

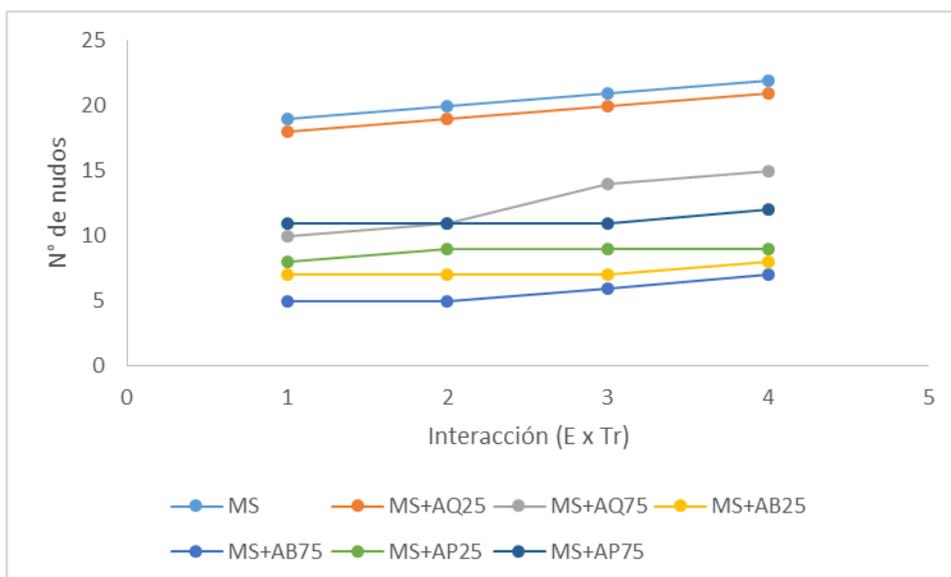


Figura 4. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de

cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las etapas – semanas (E) y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa, no así entre el testigo (MS) y el tratamiento MS + AQ₂₅, que se observa poca nula interacción, lo que quiere decir que tienen efecto similar independiente entre ellos y entre los otros tratamientos, que incide sobre la variable número de nudos por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

4.1.1. Número de nudos

Se observó que para las fuentes de variación (F de V) etapas – semanas (E), repeticiones dentro de las etapas (E > R), tratamientos – soluciones (Tr), etapas por tratamientos (E x Tr); resultaron altamente significativas al 0,01 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀) de medias iguales, lo que quiere decir, que existen diferencias entre las medias.

La media general fue de 12,21 nudos y el coeficiente de variación (CV) fue de 6,18 %, que es muy aceptable para este tipo de investigación.

Tabla 11. ADEVA para la variable número de nudos en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018.

| F de V | GL | SC | CM | F calc. | F tab. | | | | |
|-----------|----|-----------|--------|---------|--------|------|------------------|------|--------|
| | | | | | 0,05 | 0,01 | p - Valor | | |
| T | 83 | 2566,14 | | | | | | | |
| E | 3 | 63,00 | 21,00 | 5,88 | * | * | 2,80 | 4,22 | 0,0017 |
| E > R | 8 | 28,57 | 3,57 | 6,25 | * | * | 2,14 | 2,90 | 0,0000 |
| Tr | 6 | 2414,14 | 402,36 | 704,12 | * | * | 2,30 | 3,20 | 0,0000 |
| E x Tr | 18 | 33,00 | 1,83 | 3,21 | * | * | 1,79 | 2,28 | 0,0006 |
| EE | 48 | 27,43 | 0,57 | | | | | | |
| n: | 84 | x: | 12,21 | | | | CV%: 6,18 | | |

F de V: Fuente de variación, **GL:** Grados de libertad, **SC:** Sumatoria de cuadrados, **CM:** Cuadrado medio, **F cal:** Valor Fisher calculado, **F Tab:** Valor Fisher tabulado, **Valor – p:** Valor de probabilidad, **T:** Total, **E:** Periodos o etapas, **E > R:** Repeticiones dentro del periodo o etapa, **Tr:** Tratamientos, **E x Tr:** Periodos o

etapas por tratamientos, **EE**: Error experimental, **n**: Numero de datos, **x̄**: Media general, **CV%**: Coeficiente de variación, **NS**: no significativo, * y **: significativo y altamente significativo; respectivamente.

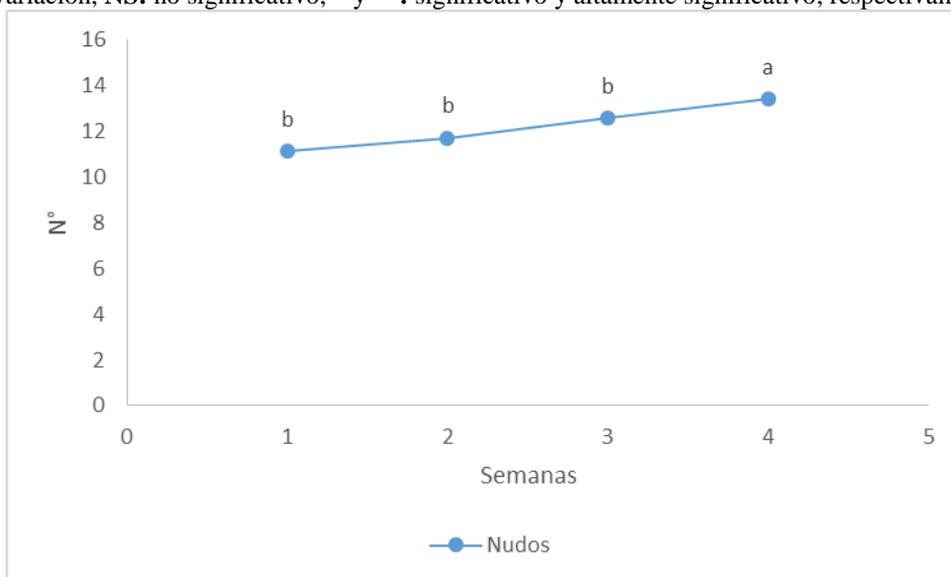


Figura 5. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS), en brotes de papa Var. Superchola.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de nudos por vitroplanta donde se observó que las etapas – semanas 1 – 3 comparten el mismo rango de significancia, así, la semana 1 con 11,14, seguido de la semana 2 con 11,71 y la semana 3 con 12,57 nudos respectivamente, destacándose la semana 4 con 13,43 nudos, siendo el mayor número de nudos por vitroplanta.

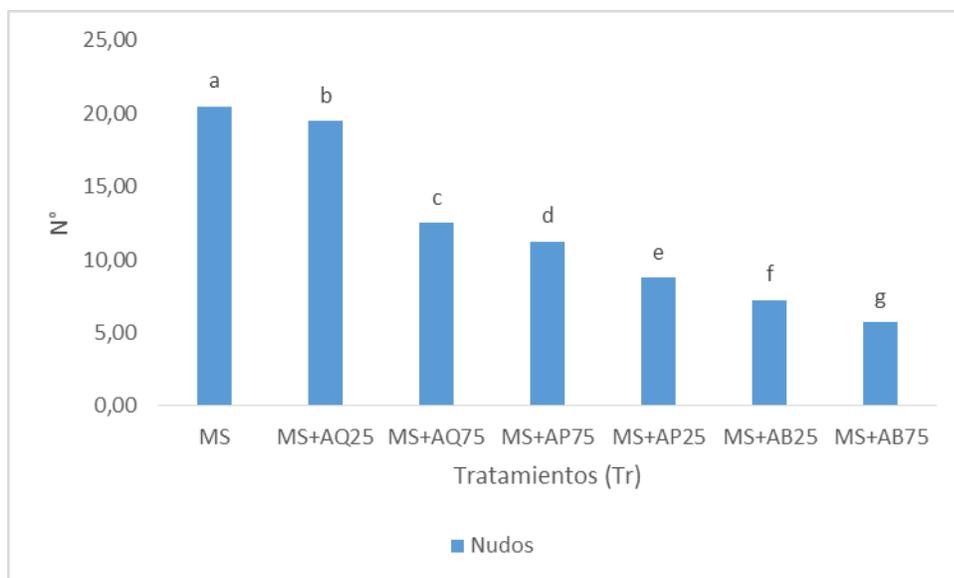


Figura 6. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de nudos por vitroplanta para la F de V tratamientos (Tr), donde se observó que los tratamientos tienen rangos diferentes, así, el tratamiento MS (testigo) se destacó con el mayor número de nudos 20,50; seguido de los tratamientos MS + AQ₂₅ con 19,50; MS + AQ₇₅ con 12,50; MS+AP₇₅ con 11,25; MS+AP₂₅ con 8,75; MS+AB₂₅ con 7,25; MS+AB₇₅ con 5,75 nudos respectivamente.

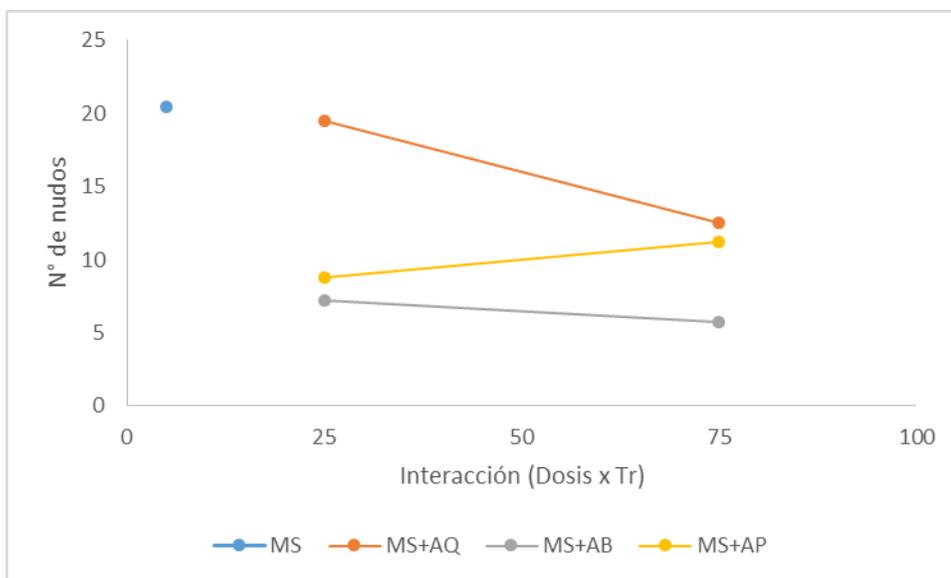


Figura 7. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán-2018.

Se observa que existen interacciones positivas y negativas entre las dosis y los tratamientos (Tr) en forma significativa, que inciden sobre la, variable número de nudos por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

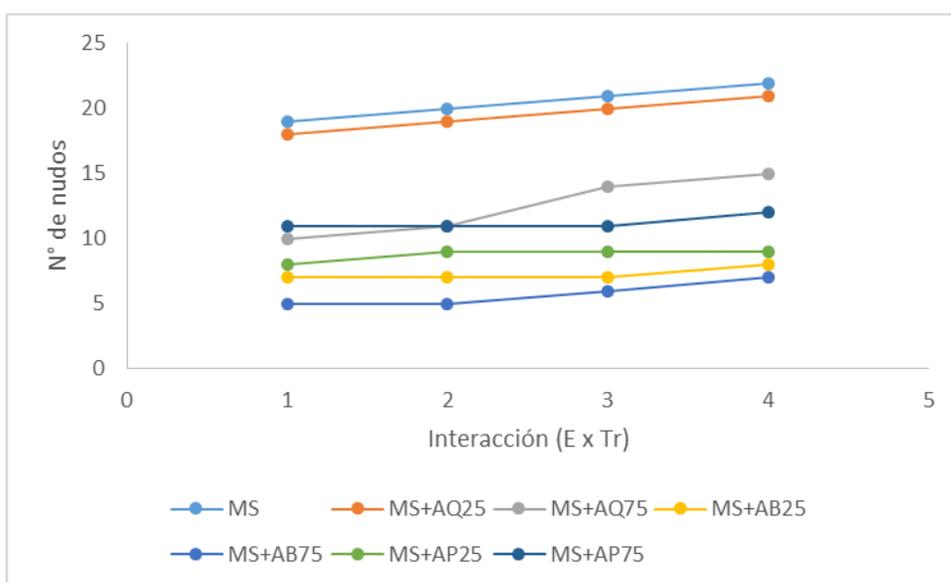


Figura 8. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de nudos por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de

cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las etapas – semanas (E) y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa, no así entre el testigo (MS) y el tratamiento MS + AQ₂₅, que se observa poca nula interacción, lo que quiere decir que tienen efecto similar independiente entre ellos y entre los otros tratamientos, que incide sobre la variable número de nudos por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

4.1.2. Número de raíces

Se observó que para la fuente de variación (F de V) etapas – semanas (E); resultó no significativo al 0,05 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis alternativa (H_a) de medias diferentes, lo que quiere decir que no existen diferencias entre las medias. Para las F de V repeticiones dentro de las etapas (E > R), tratamientos – soluciones (Tr); resultó altamente significativo al 0,01 de significancia estadística y para etapas por tratamientos (E x Tr) significativo al 0,05 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀) de medias iguales, lo que quiere decir, que existen diferencias entre las medias.

La media general fue de 3,3 raíces primarias y el coeficiente de variación (CV) fue de 9,49 %, que es muy aceptable para este tipo de investigación.

Tabla 12. ADEVA para la variable número de raíces en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

| F de V | GL | SC | CM | F calc. | | F tab. | | | |
|-----------|----|-----------|-------|---------|----|--------|-------------|-----------|--------|
| | | | | | | 0,05 | 0,01 | p - Valor | |
| T | 83 | 264,67 | | | | | | | |
| E | 3 | 5,14 | 1,71 | 0,46 | NS | . | 2,80 | 4,22 | 0,7115 |
| E > R | 8 | 30,10 | 3,76 | 39,50 | * | * | 2,14 | 2,90 | 0,0000 |
| Tr | 6 | 221,00 | 36,83 | 386,75 | * | * | 2,30 | 3,20 | 0,0000 |
| E x Tr | 18 | 3,86 | 0,21 | 2,25 | * | . | 1,79 | 2,28 | 0,0131 |
| EE | 48 | 4,57 | 0,10 | | | | | | |
| n: | 84 | x: | 3,33 | | | | CV%: | 9,49 | |

F de V: Fuente de variación, **GL:** Grados de libertad, **SC:** Sumatoria de cuadrados, **CM:** Cuadrado medio, **F cal:** Valor Fisher calculado, **F Tab:** Valor Fisher tabulado, **Valor – p:** Valor de probabilidad, **T:** Total, **E:** Periodos o etapas, **E > R:** Repeticiones dentro del periodo o etapa, **Tr:** Tratamientos, **E x Tr:** Periodos o etapas por tratamientos, **EE:** Error experimental, **n:** Numero de datos, **x:** Media general, **CV%:** Coeficiente de variación, **NS:** no significativo, * y **: significativo y altamente significativo; respectivamente.

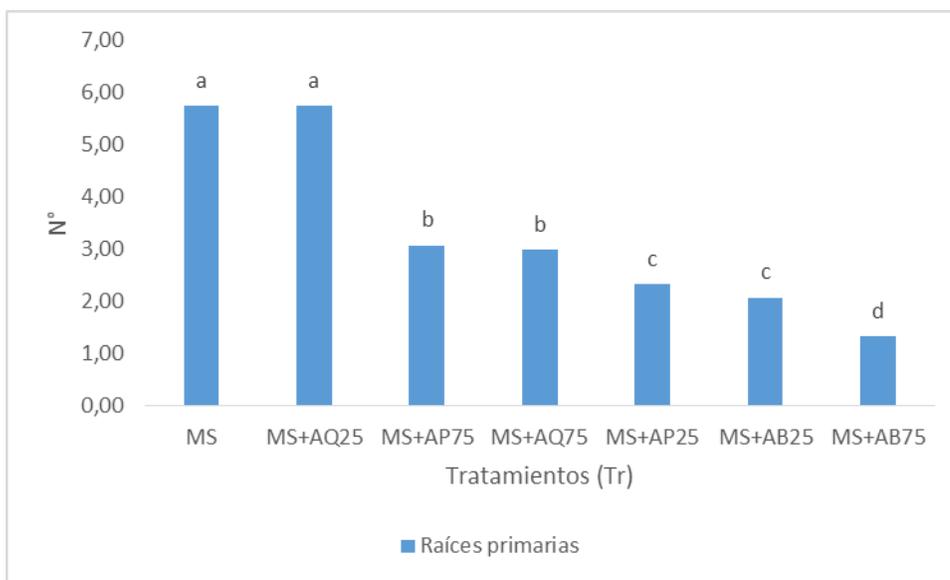


Figura 9. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de raíces principales por vitroplanta para la F de V tratamientos (Tr), donde se observó que los tratamientos poseen rangos diferentes, así, los tratamientos MS (testigo), MS + AQ₂₅ se destacan con el mayor número de raíces principales con 5,75 cada uno; seguido de los tratamientos MS+AP₇₅, MS + AQ₇₅ con 3,08 y 3,00; respectivamente, MS + AP₂₅, MS+AB₂₅ con 2,08 y 2,03; respectivamente y por último el MS+AB₇₅ con 1,33 raíces que corresponde al rango menor.

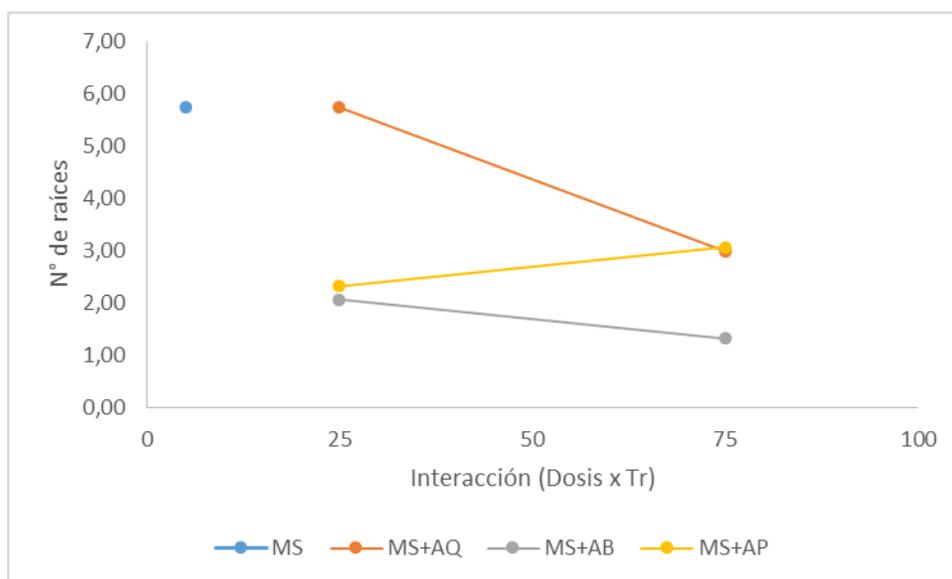


Figura 10. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las dosis y los tratamientos (Tr) en forma significativa, que inciden sobre la, variable número de raíces principales por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

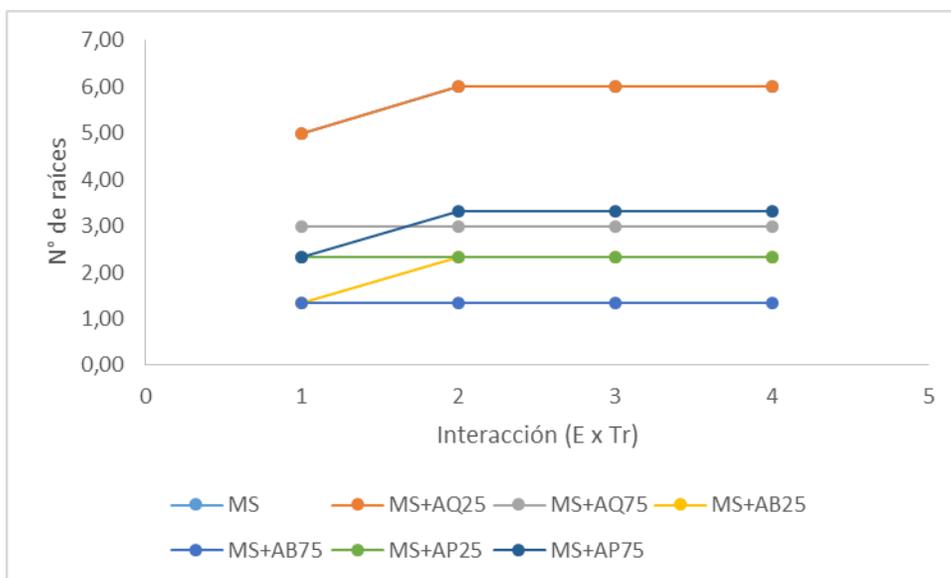


Figura 11. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de raíces por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las etapas – semanas (E) y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa; para el primer periodo o semana, no así para los periodos posteriores correspondientes a la semana 2 - 4, que se observa nula interacción, lo que quiere decir que tienen efecto similar independiente entre ellos y entre los otros tratamientos, que incide sobre la variable número de raíces por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

4.1.3. Número de hojas

Se observó que para la fuente de variación (F de V) etapas – semanas (E); resultó significativo al 0,05 de significancia estadística, para repeticiones dentro de las etapas ($E > R$), tratamientos – soluciones (Tr) y para etapas por tratamientos ($E \times Tr$); resultaron altamente significativas al 0,01 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la

hipótesis nula (H0) de medias iguales, lo que quiere decir, que existen diferencias entre las medias.

La media general fue de 8,27 raíces primarias y el coeficiente de variación (CV) fue de 3,42 %, que es muy aceptable para este tipo de investigación.

Tabla 13. ADEVA para la variable número de hojas primarias en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

| F de V | GL | SC | CM | F calc. | | F tab. | | | |
|-----------|----|------------|--------|---------|---|--------|-------------|-----------|--------|
| | | | | | | 0,05 | 0,01 | p - Valor | |
| T | 83 | 3916,70 | | | | | | | |
| E | 3 | 65,46 | 21,82 | 4,20 | * | . | 2,80 | 4,22 | 0,0102 |
| E > R | 8 | 41,52 | 5,19 | 65,40 | * | * | 2,14 | 2,90 | 0,0000 |
| Tr | 6 | 3777,62 | 629,60 | 7933,00 | * | * | 2,30 | 3,20 | 0,0000 |
| E x Tr | 18 | 28,29 | 1,57 | 19,80 | * | * | 1,79 | 2,28 | 0,0000 |
| EE | 48 | 3,81 | 0,08 | | | | | | |
| n: | 84 | x̄: | 8,27 | | | | CV%: | 3,42 | |

F de V: Fuente de variación, **GL:** Grados de libertad, **SC:** Sumatoria de cuadrados, **CM:** Cuadrado medio, **F cal:** Valor Fisher calculado, **F Tab:** Valor Fisher tabulado, **Valor – p:** Valor de probabilidad, **T:** Total, **E:** Periodos o etapas, **E > R:** Repeticiones dentro del periodo o etapa, **Tr:** Tratamientos, **E x Tr:** Periodos o etapas por tratamientos, **EE:** Error experimental, **n:** Numero de datos, **x̄:** Media general, **CV%:** Coeficiente de variación, **NS:** no significativo, * y **: significativo y altamente significativo; respectivamente.

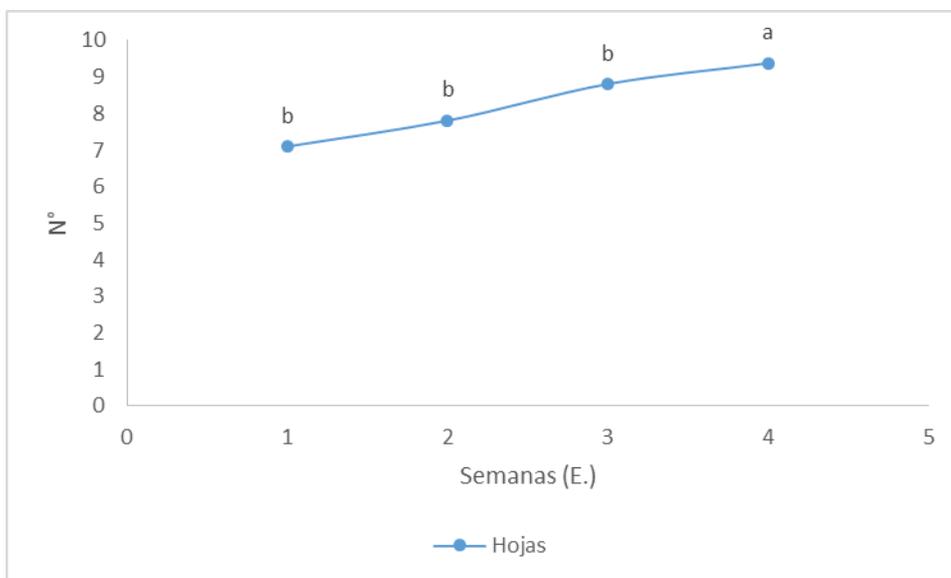


Figura 12. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V etapas – semanas (E) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de hojas primarias por vitroplanta donde se observó que las etapas – semanas 1 – 3 comparten el mismo rango de significancia, así, la semana 1 con 7,10; seguido de la semana 2 con 7,81 y la semana 3 con 8,81 hojas respectivamente, destacándose la semana 4 con 9,38 hojas, siendo el mayor número de hojas primarias por vitroplanta.

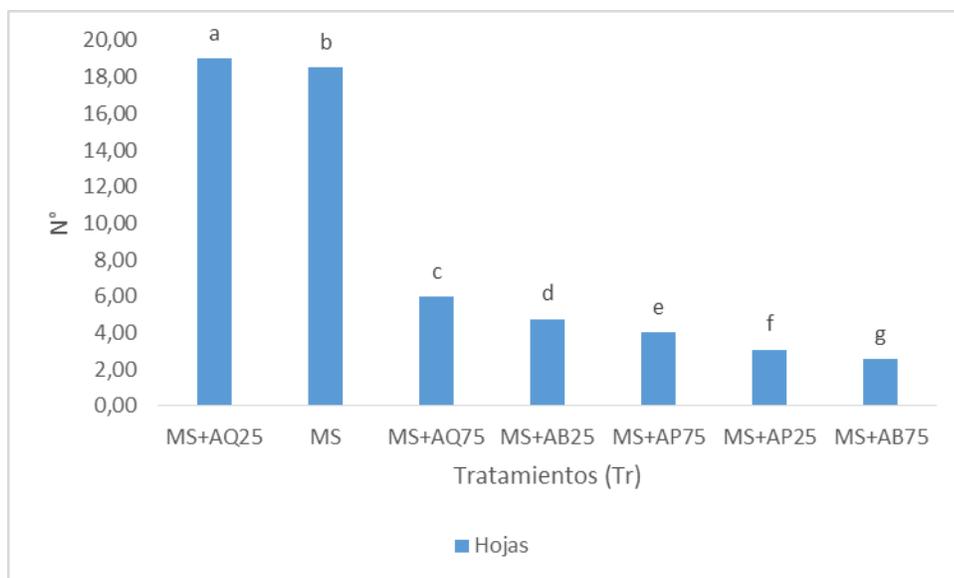


Figura 13. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable número de hojas primarias por vitroplanta para la F de V tratamientos (Tr), donde se observó que los tratamientos tienen rangos diferentes, así, el tratamiento MS + AQ₂₅ se destacó con el mayor número de hojas primarias 19,00; seguido del tratamiento MS (testigo) con 18,50, luego MS + AQ₇₅ con 6,00; MS + AB₂₅ con 4,75; MS+AP₇₅ con 4,00; MS+AP₂₅ con 3,08 MS+AB₇₅ con 2,58 hojas primarias; respectivamente.

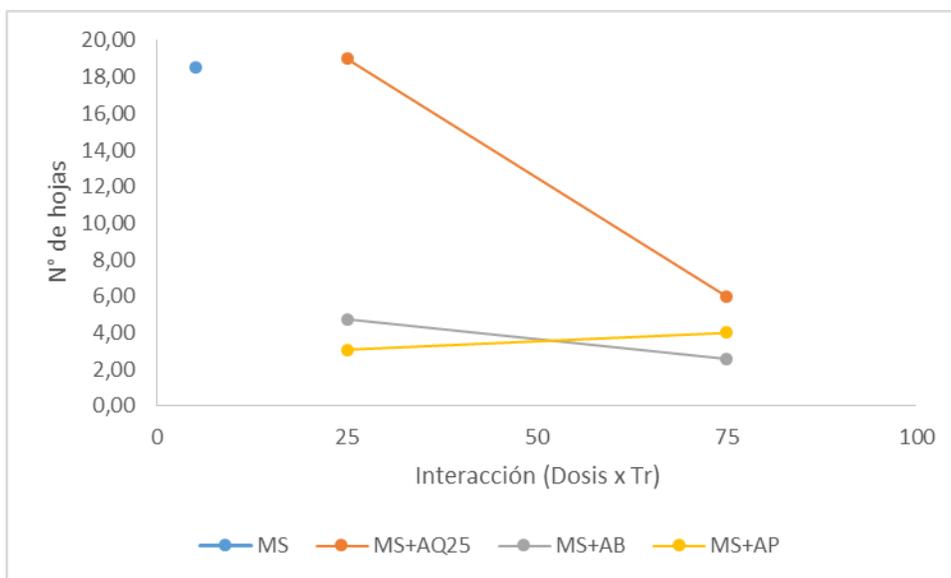


Figura 14. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones negativas e inversas entre las dosis y los tratamientos (Tr) en forma significativa, que inciden sobre la, variable número de hojas primarias por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

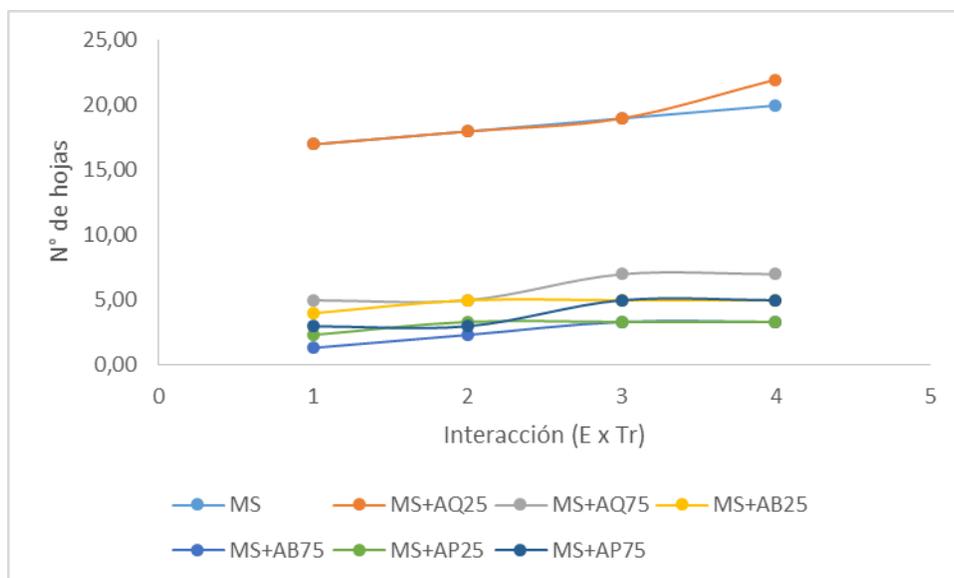


Figura 15. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable número de hojas primarias por vitroplanta en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las etapas – semanas (E) y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa; para todos los periodos o semanas, que incide sobre la variable número de hojas primarias por vitroplanta, lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

4.1.3. Altura de vitroplanta (cm)

Se observó que para la fuente de variación (F de V) etapas – semanas (E); resultó no significativo al 0,05 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis alternativa (Ha) de medias diferentes, lo que quiere decir que no existen diferencias entre las medias. Para las F de V repeticiones dentro de las etapas (E > R), tratamientos – soluciones (Tr), etapas por tratamientos (E x Tr) significativo al 0,05 de significancia estadística; resultaron altamente significativos al 0,01 de significancia estadística, por tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) de medias iguales, lo que quiere decir, que existen diferencias entre las medias.

La media general fue de 5,02 cm y el coeficiente de variación (CV) fue de 0,43 %, que es muy aceptable para este tipo de investigación. (Ver anexo 4).

Tabla 14. ADEVA para la variable altura de planta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

| F de V | GL | SC | CM | F calc. | | F tab. | | |
|-----------|----|------------|---------|-----------|-----|-------------|------|-----------|
| | | | | | | 0,05 | 0,01 | p - Valor |
| T | 83 | 556,54 | | | | | | |
| E | 3 | 58,42 | 19,4700 | 2,33 | NS | 2,80 | 4,22 | 0,0861 |
| E > R | 8 | 66,88 | 8,3600 | 17557,00 | * * | 2,14 | 2,90 | 0,0000 |
| Tr | 6 | 379,11 | 63,1900 | 132689,38 | * * | 2,30 | 3,20 | 0,0000 |
| E x Tr | 18 | 52,1 | 2,8900 | 6078,44 | * * | 1,79 | 2,28 | 0,0000 |
| EE | 48 | 0,02 | 0,00048 | | | | | |
| n: | 84 | x̄: | 5,02 | | | CV%: | 0,43 | |

F de V: Fuente de variación, **GL:** Grados de libertad, **SC:** Sumatoria de cuadrados, **CM:** Cuadrado medio, **F cal:** Valor Fisher calculado, **F Tab:** Valor Fisher tabulado, **Valor – p:** Valor de probabilidad, **T:** Total, **E:** Periodos o etapas, **E > R:** Repeticiones dentro del periodo o etapa, **Tr:** Tratamientos, **E x Tr:** Periodos o etapas por tratamientos, **EE:** Error experimental, **n:** Numero de datos, **x̄:** Media general, **CV%:** Coeficiente de variación, **NS:** no significativo, * y **: significativo y altamente significativo; respectivamente.

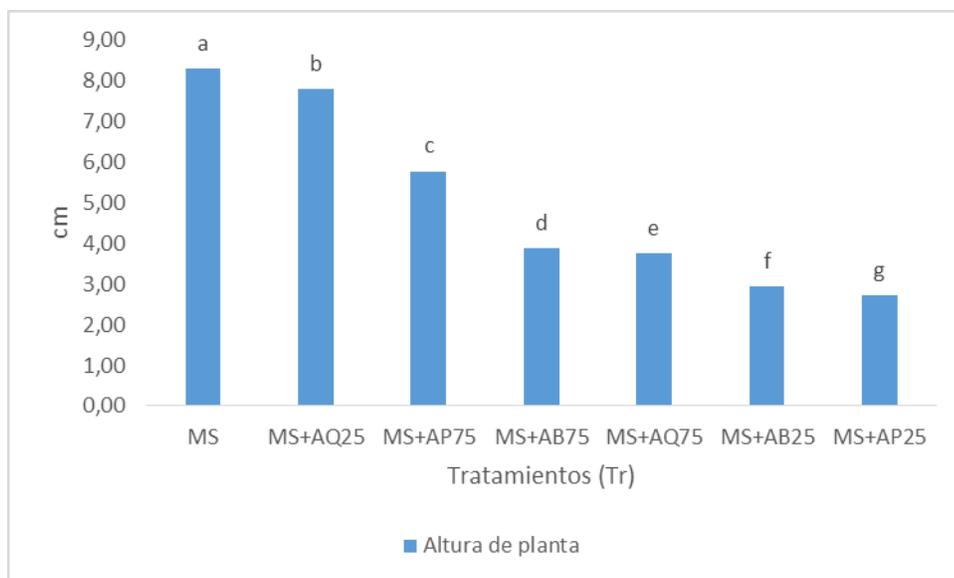


Figura 16. Comparación de medias y nivel de significancia (Tukey 5%) de la F de V Tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa variedad Superchola. Tulcán – 2018.

Se realizó una prueba “post – hoc” Tukey al 5 % de significancia estadística para la variable altura de vitroplanta (cm) para la F de V tratamientos (Tr), donde se observó que los tratamientos tienen rangos diferentes, así, el tratamiento MS (testigo) con 8,30 cm destacándose con la mayor altura de planta; seguido de MS + AQ₂₅ con 7,80 cm, MS+AP₇₅ con 5,78 cm; MS + AB₇₅ con 3,88 cm; MS + AQ₇₅ con 3,75 cm; MS+AB₂₅ con 2,93 y MS+AP₂₅ con 2,73 cm de altura de planta; respectivamente.

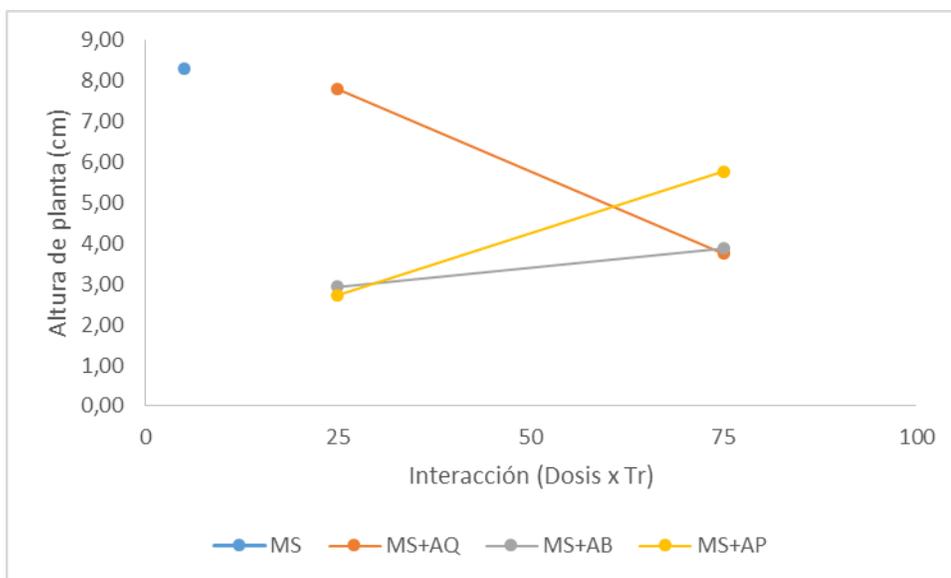


Figura 17. Interacción entre las dosis x tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones negativas e inversas entre las dosis y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa, que inciden sobre la variable altura de vitroplanta (cm), lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

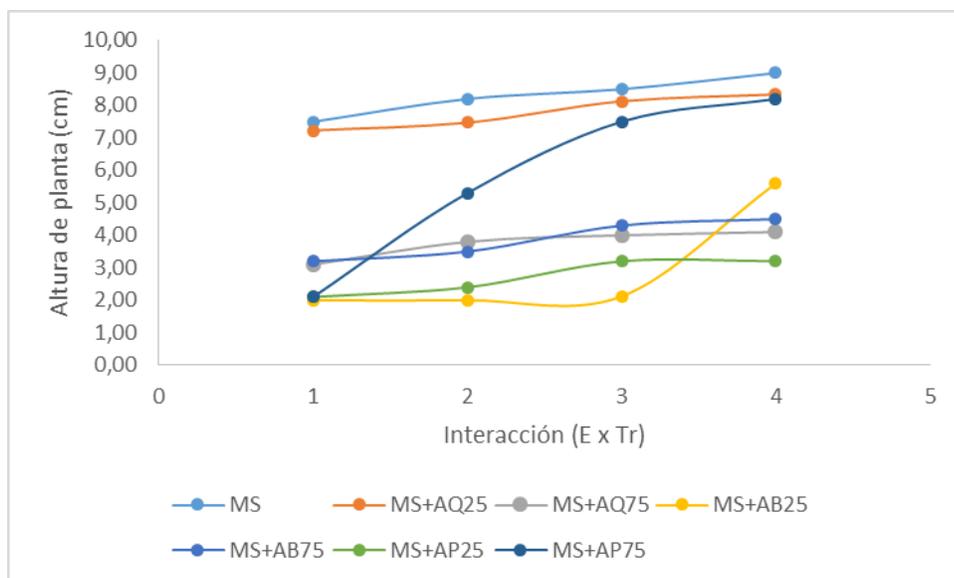


Figura 18. Interacción entre las etapas - semanas x tratamientos (Tr) para la variable altura de vitroplanta (cm) en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

Se observa que existen interacciones positivas, negativas e inversas entre las etapas – semanas (E) y los tratamientos (Tr) en forma significativa y altamente significativa; para todos los periodos o semanas, que incide sobre la variable altura de vitroplanta (cm), lo que radica la importancia en la investigación; sobre el uso de las soluciones alternativas.

4.2. DISCUSIÓN

Para las variables número de nudos por vitroplanta (*Figura 1 – 4*), número de raíces principales (*Figura 5 – 7*), número de hojas primarias (*Figura 8 – 11*) y altura de vitroplanta (*12 – 14*) se observó el crecimiento normal de la vitroplanta, en forma gradual, que indica que la fisiología de la planta fue normal en los diferentes periodos o semanas.

En cuanto al efecto de los tratamientos se observó que el testigo MS resultó con el mayor número de nudos por vitroplanta; seguido del medio MS + AQ₂₅ a la dosis baja. Para la variable número de raíces por vitroplanta, se observó que el MS (testigo) y tratamiento MS + AQ₂₅, resultaron con el mayor número de raíces principales por vitroplanta. Para la variable número de hojas primarias por vitroplanta, el tratamiento MS + AQ₂₅ superó al testigo MS. Para la variable altura de vitroplanta (cm), el testigo MS resultó con el mayor

número de nudos por vitroplanta; seguido del medio MS + AQ₂₅ a la dosis baja, que pudo deberse, a que el medio de cultivo Murashige & Skoog (M&S) en las superó a los demás tratamientos contiene en su composición en forma equilibrada macro y micronutrientes adicionales que inciden directamente sobre la fisiología del crecimiento destacándose como tal, por lo expuesto por (Krikorian, 2015) y (FAO, 2000), el medio de cultivo M&S con adiciones complementarias es apto para la mayoría de especies vegetales, especialmente a las que se adaptan moderadamente o tolerantemente a condiciones salinas como el cultivo de papa, camote o batata, nabos, entre otros.

En investigaciones similares, por lo expuesto por (Aliaga, 2008), (Mujica & Jacobsen, 2004), se observó que el medio de cultivo M&S las plantas resultaron robustas con 12 - 17 nudos por vitroplanta y para almidón de quínoa 25ccL⁻¹ de 19 – 22 nudos por vitroplanta, que el medio de cultivo testigo (MS) resultó con 4,90 – 5,40 raíces primarias y el medio de cultivo de MS + AQ₂₅ con 5,40 – 5,80 raíces primarias, así también, que el medio de cultivo MS+AQ₂₅ las plantas resultaron más robustas con menor número de hojas cloróticas 0,70 – 1,80 hojas por vitroplanta y para el testigo M&S de 0,20 – 1,50 hojas cloróticas por vitroplanta y la mayoría de hojas sanas y turgentes; con efecto similar validando el uso de extractos alternativos para multiplicación “in vitro” y que el medio de cultivo MS (testigo) las plantas resultaron más robustas con mayor altura de 7,00 – 7,1 cm por vitroplanta y para el MS+AQ₂₅ de 4,10 cm de altura por vitroplanta. A pesar que la altura de planta es menor al testigo, el medio de cultivo M&S más extracto almidón de quínoa puede ser utilizado en multiplicación “in vitro”, porque tiene efecto similar en la fisiología del crecimiento de la planta; validando el uso de extractos alternativos para multiplicación “in vitro”.

4.3. ANÁLISIS ECONÓMICO

Se separó, examinó y evaluó cuantitativa como cualitativamente, las interrelaciones que resultaron entre los distintos tratamientos en la parte económica y la dinámica de los agentes económicos en los indicadores como la utilidad, tasa beneficio costo (B/C), así como, la rentabilidad; considerando la interacción tanto interna como externa que incidió en la investigación.

Tabla 15. Análisis económico de la investigación, evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

**Rentabilidad (USD) por cada dólar invertido.*

| Tratamientos | Medios de | Dosis | Altura | Beneficio | Costo Fijo | Costo variable | Costo total | Utilidad | Tasa | Rentabilidad |
|---------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|-----------------|--------------|---------------------|
| Tr | Cultivo | ccL⁻¹ | Vitroplanta | USD** | USD | USD | USD | USD | B / C | USD* |
| T0 | MS | 5,36 | 8,30 | 10,83 | 6,08 | 1,39 | 7,47 | 3,35 | 1,45 | 0,45 |
| T1 | MS+AQ ₂₅ | 25,00 | 7,80 | 10,17 | 6,08 | 2,14 | 8,22 | 1,95 | 1,24 | 0,24 |
| T2 | MS+AQ ₇₅ | 75,00 | 3,75 | 4,89 | 6,08 | 3,64 | 9,72 | -4,83 | 0,50 | -0,50 |
| T4 | MS+AB ₇₅ | 75,00 | 3,88 | 5,06 | 6,08 | 4,02 | 10,10 | -5,04 | 0,50 | -0,50 |
| T3 | MS+AB ₂₅ | 25,00 | 2,93 | 3,82 | 6,08 | 2,27 | 8,35 | -4,53 | 0,46 | -0,54 |
| T6 | MS+AP ₇₅ | 75,00 | 5,78 | 7,54 | 6,08 | 22,39 | 28,47 | -20,93 | 0,26 | -0,74 |
| T5 | MS+AP ₂₅ | 25,00 | 2,73 | 3,56 | 6,08 | 8,39 | 14,47 | -10,91 | 0,25 | -0,75 |

***En referencia costo de una caja de 200 vitroplantas de papa, de calidad, libre de virus y altura promedio de 4.60 cm de altura. (Agrogenesis S.A., 2019).*

Se observa en el *Tabla y Figura*, el efecto económico de la rentabilidad de los tratamientos en la investigación, destacándose como el tratamiento más rentable económicamente el testigo (MS) con una rentabilidad de 0,45USD por cada dólar invertido, seguido del tratamiento MS+AQ₂₅ con 0,24 USD de rentabilidad, lo que avala la utilización de este medio alternativo de propagación “in vitro”. Para los otros tratamientos resultó una rentabilidad negativa, lo que quiere decir que el sistema de propagación, utilizando, los otros tratamientos, no es viable económicamente hablando, por tanto, el sistema no va a ser eficiente.

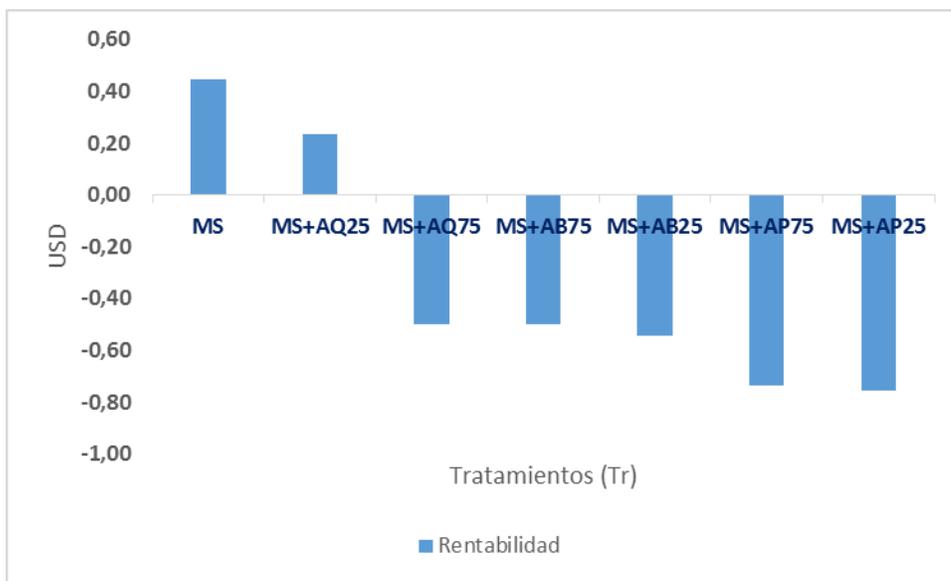


Figura 19. Análisis económico en referencia a la rentabilidad en la evaluación de tres soluciones nutritivas en el medio de cultivo Murashige & Skoog (1962) (MS); en brotes de papa Var. Superchola. Tulcán – 2018.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- ✓ De la evaluación de los tres tipos de medios de cultivos almidón de quínoa, banano y papa, se obtuvieron diferentes respuestas fisiológicas en cada una de las variables, pero por los resultados obtenidos, se puede considerar el uso para micropropagación “in vitro” al almidón de quínoa, porque se obtuvo resultados aceptables en la parte investigativa y económica; destacándose sus beneficios.
- ✓ La mejor dosis que se destacó para las variables número de nudos, número de raíces primarias, número de hojas primarias y altura (cm) por vitroplanta fue la dosificación menor correspondiente a 25 g L⁻¹ del medio de cultivo Murashige & Skoog más almidón de quínoa (MS+AQ), que se destacó entre los otros tratamientos enriquecidos con los almidones establecidos.
- ✓ El medio de cultivo más adecuado que se puede utilizar alternativo al Murashige & Skoog (MS) es el suplementado con almidón de quínoa, debido a su composición química de nutrientes y al pH ácido que posee, regulando el pH alcalino del medio (MS) haciendo más amigable la asimilación de nutrientes para el desarrollo y multiplicación del cultivo “in vitro” de papa.
- ✓ De acuerdo al análisis económico realizado para la investigación, se puede concluir que los medios de cultivo “in vitro” suplementados con sustancias alternativas como los almidones de quínoa, banano y papa, el que dio los mejores resultados, en cuanto a la rentabilidad económica fue el de quínoa a la dosis baja.

5.2. RECOMENDACIONES

- ✓ Utilizar medios alternativos suplementados al medio estándar MS con la utilización de otros tipos de almidones de origen vegetal, para ser estudiados, de acuerdo al interés de la micropropagación.
- ✓ Utilizar diferentes dosis de las sustancias de almidones experimentales de origen vegetal, para determinar las dosis adecuadas a ser suplementadas en los medios de micropropagación estándar más utilizados, para el ahorro de recursos y la obtención de material de propagación sano y de calidad.
- ✓ Estudiar el efecto de estos medios alternativos de micropropagación “in vitro” en otros cultivos de interés, para hacer eficientes los procesos de multiplicación de material vegetal certificado.
- ✓ En futuras investigaciones se recomienda medir el porcentaje de prendimiento para verificar la efectividad de medios alternativos y determinar cuál es el más adecuado para esta variable.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, C. (2012). La micropropagación en especies forestales. *Ciencia Actual*, 3-4.
- Aliaga, R. (2008). *Sustitución de la solución de vitaminas de medio Murashige & Skoog por extracto de harina de quínoa y cañagua para la multiplicación "in vitro" de dos variedades de papa (Solanum tuberosum spp andigenum)* . La Paz - Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés. 132p.
- Alvarez, M. (Febrero de 2002). *El cultivo de papa (Solanum tuberosum L.) en México y el estudio de la costa negra (Rhizoctonia Solani kuhn)*. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1211/EL%20CULTIVO%20DE%20LA%20PAPA%20%28Solanum%20tuberosum%20L.%29%20EN%20MEXICO%20Y%20EL%20ESTUDIO%20DE%20LA%20COSTRA%20NEGRA%20%28Rhizoctonia%20solani%20Kuhn.%29.pdf?sequence=1&isAllowed>
- Arias, J., & Santamaria, E. (Febrero de 2012). *Repositorio PUCESI*. Obtenido de Evaluación y selección de doce clones de papa (Solanum tuberosum) en las condiciones agroecológicas de la ciudad de Ibarra en el sector La Victoria: <http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/214/1/T71792.pdf>
- Bermúdez, D. (2017). *Evaluación tecnológica de la harina de quínoa (Quenopodium quinoa) variedad piartal como espesante alimentario obtenida bajo diferentes condiciones de proceso*. Obtenido de http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21531/43082000_2017.pdf?sequence=1
- Calle, E. Q. (2009). *Evaluación agronómica de tres genótipos de vitroplantas de papa nativa (Solanum tuberosum spp. andigenum L.) bajo tres diferentes sustratos hidropónicos para la producción de semilla pre-básica en invernadero*. Obtenido de <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/5044/T-1351.pdf?sequence=1>
- Calvo, M. (2011). *Bioquímica de los alimentos*. Obtenido de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/almidon.html>
- CANNA. (2016). *CANNA*. Obtenido de Reguladores de crecimiento:

- http://www.canna.es/reguladores_del_crecimiento_vegetal
- Caravia, E. (2013). *Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación de algarrobo tropical (Prosopis pallida) H.B.K. QUITO, PICHINCHA*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/989/1/T-UCE-0004-14.pdf>
- Castells, P. (Septiembre de 2009). *Investigación y ciencia*. Obtenido de <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/biocarburantes-489/el-almidn-1136>
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Obtenido de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Castro, J., Agramonte, D., Alvarado, Capo, Y., De Feria, M., & Pugh, T. (2012). Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. *Biotecnología Vegetal*, 3-24.
- CENTA. (2010). *Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova”*. Obtenido de <http://centa.gob.sv/upload/laboratorios/biotecnologia/2018/CULTIVO%20IN%20VITRO.pdf>
- Chávez, P. (2008). *La Papa tesoro de los Andes*. Obtenido de http://fci.uib.es/digitalAssets/177/177040_peru.pdf
- Expofrut. (2013). *Expofrut*. Obtenido de http://www.expofrut.com.ar/PDF/ficha_platano.pdf
- FAO. (2000). *Evapotranspiración del cultivo - Guías para la determinación de los requerimientos de agua en los cultivos*. Utah - USA: USDA - FAO.
- FAO. (2008). *Tesoro enterrado*. Obtenido de La papa y la biotecnología: <http://www.fao.org/potato-2008/es/lapapa/biotecnologia.html>
- FAO. (2013). *Quínoa*. Obtenido de http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/nutritional-value/es/?no_mobile=1
- Fundación Universitaria Iberoamericana. (2017). *Composición Nutricional*. Obtenido de Almidón de papa: <https://www.composicionnutricional.com/alimentos/ALMIDON-DE-PAPA-5>

- G, M. D., Cárdenas, O., & Cárdenas, A. (2012). Almidón de papa, agente gelificante alternativo en medios de cultivo para propagación in-vitro de lulo *Solanum quitoense* Lam. *Revista de ciencias Agrícolas*, 2.
- García, R. C. (2008). *Sustitución de la solución de vitaminas del medio murashige y skoog (1962) por extracto de harina de quínoa y cañahua para la multiplicación "in vitro" de dos variedades de papa (Solanum tuberosum spp andigehum)*. Obtenido de <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/4886/T-1303.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- George, E. F., Hall, M., & Jan de Klerk, G. (2008). *Plant propagation by tissue culture*. Springer. Holanda: (3rd Edition) .
- Hernández, A. (2012). *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. Obtenido de Harina de plátano: <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa2/n7/p4.html>
- INIAP. (2011). Información técnica de la variedad de papa INIAP. *Informe Técnico N°3*, 6-8.
- Krikorian, A. (2015). Medios de Cultivo - Generalidades composición y preparación. En A. Krikorian, *Medios de cultivo* (págs. 41 - 59). State University of New York - Department of Biochemistry: SUNY - USA.
- Malajovich, M. A. (2014). *Micropropagación* . Obtenido de Medios de cultivo: https://bteduc.com/guias_es/96_Micropropagacion_medios_de_cultivo.pdf
- Méndez, P. (Abril de 2016). *Producción de Papa Semilla*. Obtenido de <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR40395.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (Junio de 2016). *INIAP y CIP difunden técnicas para producir semilla de papa de calidad*. Obtenido de <http://www.agricultura.gob.ec/iniap-y-cip-difunden-tecnicas-para-producir-semilla-de-papa-de-calidad/>
- Mroginski, L., & Roca, W. (2012). *Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro*. Obtenido de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo2.pdf>
- Olmos, S., Luciani, G., & Galdeano, E. (2002). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II* . Obtenido de Métodos de propagación y conservación de germoplasma:

- http://www.argenbio.org/adc/uploads/Libro_INTA_II/Parte_IV.pdf
- Paliz, K. (Marzo de 2012). *Desarrollo de un protocolo de micropropagación de chirimoya (Annona cherimola) a partir de segmentos nodales para la producción masiva de plantas de alto rendimiento*. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5188/1/T-ESPE-033135.pdf>
- Patiño, C. O. (Noviembre de 2012). *Repositorio UNAD*. Obtenido de Avances de la micropropagación: <http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/2515/1/17127974.pdf>
- Piedra, M. A. (2014). *Evaluación de la microtuberización de los cultivares INIAP- Victoria y Superchola, bajo sistemas de inmersión temporal*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2490/1/T-UCE-0004-68.pdf>
- Probiotex. (2017). *Medio Murashige & Skoog*. Obtenido de <https://www.probiotek.com/productos/reactivos/murashige-and-skoog-ms-medium/>
- Punina, E. (2013). *Repositorio UTA*. Obtenido de Evaluación agronómica del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) C.V. "fripapa" a la aplicación de tres abonos completos.: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6532/1/Tesis-69%20%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%202010.pdf>
- Ramírez, J. (9 de Septiembre de 2014). *Tipos y Funciones de los Medios de Cultivo*. Obtenido de <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/09/tipos-y-funciones-de-los-medios-de.html>
- Reinoso , I. (2011). *El cultivo de papa y su participación en la economía ecuatoriana*. Obtenido de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Q7T_FhRT7SgJ:www.inia.p.gob.ec/nsite/images/stories/descargas/programas/cultivo_papa.doc+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec
- Reinoso, A. F. (2009). *Caracterización morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (Solanum tuberosum L.) en la provincia de Chimborazo*. Obtenido de

<http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Caracterizaci%C3%B3n%20morfol%C3%B3gica%20e%20inventario%20de%20conocimientos%20colectivos%20de%20variedades%20de%20papas%20nativas..pdf>

Rodríguez, L. E. (2009). *Teorías sobre la clasificación taxonómica cultivadas (Solanum L. sect Petota Dumort). Una revisión*. Obtenido de

<http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v27n3/v27n3a03.pdf>

Sharry, S. (2015). *Plantas de probeta*. Universidad de la Plata. Obtenido de Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro.

Sharry, S., Adema , M., & Abedini , W. (2015). *Plantas de probeta Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. Plata: Universidad de la Plata.

Tabares, E., Jaramillo , S., González, L., & Cotés, J. (26 de Mayo de 2009). *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA)*. Obtenido de

Micropropagación de tres variedades de papa (Solanum Tuberosum L.):

[http://www.sidalc.net/cgi-](http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=026941)

[bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=026941](http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=026941)

Talentos para la vida. (2017). *Valor nutritivo de la papa*. Obtenido de

<http://www.talentosparalavida.org/nota151.asp>

Villegas, B. (2012). *Harina de banano verde*. Obtenido de

<https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914062.pdf>

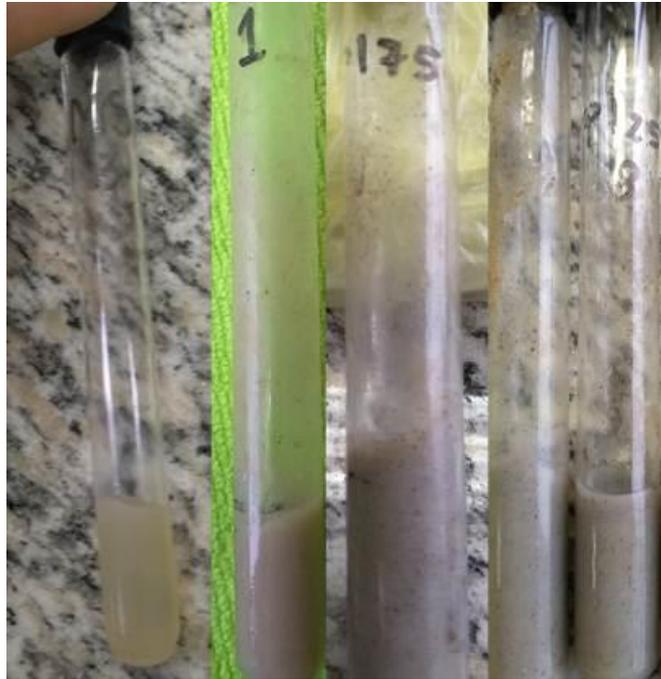
VII. ANEXOS



Anexo 1. Foto Semilla Superchola



Anexo 2. Foto desinfección de la semilla



Anexo 3. Foto Medios de cultivos para la siembra



Anexo 4. Foto altura (cm) en medio MS y MS +AQ₂₅