

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE AGRONOMÍA



INFORME FINAL DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

“Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia”

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

AUTORA

LISSETH ABIGAIL TIPANTASIG CHANGO

TUTOR

ING. MICHEL LEIVA MORA DR. C.

CEVALLOS-ECUADOR

2023

APROBACIÓN

“Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia”

REVISADO POR

.....

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

TUTOR

“Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia”

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

FECHA

.....

14/03/2023

Ing. Patricio Núñez Torres, PhD

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

14/03/2023

Ing. Mg. Rita Santana

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

14/03/2023

Ing. Mg David Guerrero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

“La suscrita, TIPANTASIG CHANGO LISSETH ABIGAIL, portadora de cédula de identidad número: 1804405668, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Trabajo de Investigación titulado: “Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia” es original, auténtico y personal.

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

A handwritten signature in blue ink on a light yellow background. The signature is cursive and appears to read 'Lisseth Tipantasig Chango'.

.....
TIPANTASIG CHANGO LISSETH ABIGAIL

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Trabajo de investigación titulado “**Microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

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

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



.....

TIPANTASIG CHANGO LISSETH ABIGAIL

AGRADECIMIENTO

Primeramente, quiero agradecerle a Dios quien con su bendición me ha brindado una segunda oportunidad de vida, por haber cuidado de mí en el momento más difícil que he pasado, por haber puesto sus manos sagradas en mi pronta recuperación y por otorgarme la sabiduría y fuerza para cumplir esta meta tan anhelada.

A la Universidad Técnica de Ambato, de forma especial a mi querida Facultad de Ciencias Agropecuarias, por confiar en mí, abrirme sus puertas y permitirme formar parte de ella. A los docentes que en el transcurso de la carrera me han enseñado su valioso conocimiento, por la paciencia, dedicación y por la amistad que me han brindado, que gracias a ello he crecido como persona y profesional.

A mi tutor, Doctor Michel Leiva Mora por apoyarme en el transcurso del desarrollo de mi proyecto de investigación, por la confianza, conocimientos, tiempo dedicado y por presionarme para salir de mi zona de confort. De igual manera a la Ing. Rita Santana y al Dr. Carlos Vásquez por sus consejos, por preocuparse y estar pendiente en cada momento durante la elaboración de este proyecto.

A la Ing. Catherine Silva por haberme facilitado los materiales e instrumentos necesarios para terminar de manera exitosa la tesis, además le agradezco por su grata compañía durante todo este periodo.

A mis amigos y compañeros con los que he convivido durante todo este transcurso, gracias por apoyarme, por los hermosos momentos, anécdotas y experiencias que hemos pasado juntos.

Mi más sincero agradecimiento a todos ustedes.

LISSETH ABIGAIL TIPANTASIG CHANGO

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado de manera especial a mi madre María por ser el pilar que me inspira a seguir luchando por mis metas y anhelos, por enseñarme a afrontar los problemas y adversidades de la vida, por ser una gran madre trabajadora, humilde y de un gran corazón, que a pesar de mi mal carácter siempre me ha brindado su cariño y comprensión.

A mi padre, que a pesar de la distancia me ha brindado siempre su apoyo para seguir con mis estudios, aunque nos falta mucho por vivir juntos sé que se alegra por cada meta que cumplo.

A mis hermanas, Verónica, Gabriela y Keila por su cariño y apoyo incondicional, durante todo el trascurso de mi vida y por las palabras de aliento que me motivaron a no rendirme.

A mi tía Carmen, porque se ha convertido en mi segunda madre al dedicar gran parte de su vida en mi crianza, por tratarme como una de sus hijas y brindarme todo su amor.

A mis tíos, primos y demás familiares que se han preocupado por mi bienestar y me han sabido aconsejar para ser una mejor persona.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN	ii
AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN.....	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Antecedentes investigativos	3
1.3. OBJETIVOS	5
1.4. Características fundamentales o marco conceptual	6
1.4.1. Generalidades.....	6
1.4.2. Clasificación Taxonómica de la papa.....	7
1.4.3. Descripción botánica.....	7
1.4.4. Condiciones edáficas y climáticas.....	8
1.4.5. Ciclo vegetativo	9
1.4.6. Métodos de propagación de la papa.....	10

1.4.7. El cultivo <i>in vitro</i> de papa.....	11
1.4.8. Factores que influyen en la microtuberización <i>in vitro</i> de papa.....	11
1.4.9. Medio de cultivo.....	11
1.4.10. Fuente de carbono.....	13
1.4.11. Fitohormonas	13
CAPÍTULO II.....	15
METODOLOGÍA	15
2.1. Ubicación del proyecto de investigación.....	15
2.2. Características del lugar.....	15
2.3. Equipos y materiales.....	15
2.3.1. Material experimental.....	15
2.3.2. Equipos.....	15
2.3.3. Materiales.....	16
2.4. Factores de estudio.....	18
2.4.1. Objetivo N° 1: Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.....	18
2.4.2. Objetivo N° 2: Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.....	18
2.4.3. Objetivo N° 3: Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.....	18
2.4.4. Objetivo N° 4: Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.....	18
2.5. Tratamientos.....	19
2.5.1. Objetivo N° 1: Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.....	19

2.5.2. Objetivo N° 2: Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.....	20
2.5.3. Objetivo N°3: Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.	21
2.5.4. Objetivo N° 4: Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.....	21
2.6. Diseño experimental	22
2.7. Hipótesis	22
2.8. Manejo del experimento.....	23
2.8.1. Objetivo 1. Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.....	23
2.8.2. Objetivo 2. Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.....	32
2.8.3. Objetivo 3. Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.....	34
2.8.4. Objetivo 4. Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.....	36
2.9. VARIABLES RESPUESTA	38
2.9.1. Variables respuesta en la fase de establecimiento <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola y Cecilia	38
2.9.2. Variables respuesta en la fase de microtuberización <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola y Cecilia	39
2.10. Procesamiento de la información	40
CAPÍTULO III.....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41

3.1. Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.	41
3.1.1. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia.	41
3.1.2. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola.	46
3.1.3. Influencia de diferentes medios de cultivos MS y MS con vitaminas de Gamborg en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia.	50
3.1.4. Influencia de diferentes medios de cultivos MS y MS con vitaminas de Gamborg en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola.	53
3.1.5. Influencia del nitrato de amonio y nitrato de potasio en la formación de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola y Cecilia.	55
3.2. Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.	56
3.2.1. Influencia de la concentración de sacarosa sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i>. L Var. Cecilia.	56
3.2.2. Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i>. L Var. Cecilia.	59
3.2.3. Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i>. L Var. Superchola.	62
3.3. Evaluación del efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.	62
3.3.1. Influencia de las diferentes condiciones de iluminación en la producción de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i>. L Var. Superchola y Cecilia.	62
3.4. Determinación del efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.	63

3.4.1. Influencia del tipo de auxina sobre la producción de microtubérculos <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> . L Var. Superchola y Cecilia.	63
3.4.2. Influencia del tipo de citoquinina sobre la producción de microtubérculos <i>in vitro</i> de <i>S. tuberosum</i> . L Var. Cecilia.	64
CAPÍTULO IV	81
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	81
4.1. CONCLUSIONES	81
4.2 RECOMENDACIONES	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la papa <i>S. tuberosum</i>	7
Tabla 2. Influencia de concentraciones de Agar para la etapa de establecimiento de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola y Cecilia.....	19
Tabla 3. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa en la formación de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola y Cecilia.....	20
Tabla 4. Influencia de concentraciones de auxinas ANA (ácido naftalen acético), AIA (ácido indol acético) y AIB (ácido indol butírico) para la formación de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola y Cecilia.....	21
Tabla 5. Influencia de concentraciones de citoquininas 2iP (N-isopentil adenina), TDZ (thidiazuron) y BAP (6-benzilaminopurina) para la formación de microtubérculos de papa <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola y Cecilia.....	22
Tabla 6. Influencia de diferentes concentraciones de agar sobre el número de nudos, número de hojas, altura de la planta y porcentaje de contaminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 7, 14 y 21 días.....	43
Tabla 7. Influencia de diferentes concentraciones de agar sobre el número de nudos, número de hojas, altura de la planta y porcentaje de contaminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.....	47
Tabla 8. Influencia de diferentes medios de cultivos suplementados con sacarosa y vitaminas de Gamborg sobre el número de nudos y número de hojas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 7, 14 y 21 días.....	51
Tabla 9. Influencia de diferentes medios de cultivos suplementados con sacarosa y vitaminas de Gamborg sobre el número de nudos y número de hojas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.....	53

Tabla 10. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 30, 60 y 90 días.....	57
Tabla 11. Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo, en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 90 días.....	60
Tabla 12. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 30, 60 y 90 días.....	65
Tabla 13. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Cecilia a los 90 días.....	68
Tabla 14. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 30, 60 y 90 días.....	71
Tabla 15. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 90 días.....	74
Tabla 16. Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> L. Var. Superchola a los 30, 60 y 90 días.....	76
Tabla 17. Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del	

microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Superchola a los 90 días.....79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama de actividades realizado para la preparación de medio de cultivo con diferentes concentraciones de Agar para el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Superchola y Cecilia.	24
Figura 2 Diagrama de actividades realizadas para el manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar para el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Superchola y Cecilia.	26
Figura 3 Diagrama de actividades realizadas para el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Cecilia y Superchola, preparación de dos medios de cultivo.	28
Figura 4 Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto dos tipos de Nitratos (NH ₄ NO ₃ , KNO ₃) en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Cecilia y Superchola.	30
Figura 5 Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de diferentes concentraciones de sacarosa en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Cecilia y Superchola.	32
Figura 6 Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de la iluminación en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Cecilia y Superchola.....	34
Figura 7 Diagrama de actividades realizado para determinar los efectos de auxinas y citoquininas en la microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> var. Cecilia y Superchola.	36
Figura 8 Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de agar a los 14 y 21 días.....	45
Figura 9 Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de agar a los 14 y 21 días.	49

Figura 10 Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia con dos diferentes medios de cultivo a los 14 y 21 días.	52
Figura 11 Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola con dos diferentes medios de cultivo a los 14 y 21 días.	54
Figura 12 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de sacarosa a los 60 y 90 días.	58
Figura 13 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de sacarosa a los 90 días.	61
Figura 14 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> Var. Cecilia con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 60 y 90 días.	66
Figura 15 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 90 días.	69
Figura 16 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 60 y 90 días.....	72
Figura 17 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> Var. Superchola con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 90 días.....	75
Figura 18 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Solanum tuberosum</i> L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de TDZ a los 60 y 90 días.	77
Figura 19 Microtuberización <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>S. tuberosum</i> Var. Superchola con diferentes concentraciones de TDZ a los 90 días.	80

RESUMEN

La microtuberización *in vitro* se ha convertido en una alternativa para la producción de semilla certificada a fin de combatir el uso de tubérculos-semilla convencional y evitar los problemas fitosanitarios que conlleva su uso. La presente investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar ciertos factores que influyen en el establecimiento y microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola y Cecilia como: diferentes concentraciones de agar y el efecto de medios de cultivo (MS y MSG). En la microtuberización *in vitro* se analizaron los siguientes factores: efecto de fuente de nitratos, concentraciones de sacarosa, condiciones de iluminación, tipo de auxina, tipo de citoquinina y sus concentraciones. Se empleó un diseño completamente al azar en cada experimento. Se determinó que al añadir 6 g.L^{-1} de agar se alcanzó el mayor número de nudos y número de hojas para la variedad Cecilia, por otra parte, se obtuvo la mayor longitud por planta en la variedad Superchola con dicha concentración. Los segmentos nodales se establecieron bien en el medio MS y MSG en las Var. Superchola y Cecilia. En la fase de microtuberización *in vitro* el Nitrato de amonio y Nitrato de Potasio no influyeron en la formación de microtubérculos. Las concentraciones de sacarosa de 70, 80 y 90 g.L^{-1} incrementaron el diámetro, masa fresca, masa seca y número de yemas de los microtubérculos, por otra parte, en la variedad Superchola no se presentó la formación de microtubérculos. Las condiciones de iluminación empleadas, no influyó en la microtuberización en las Var. Superchola y Cecilia. La presencia de auxinas (ANA, AIA y AIB) y sus concentraciones no influyeron en la formación de microtubérculos. El 6-BAP ($0,8 \text{ mg.L}^{-1}$) incrementó el número de microtubérculos, diámetro, masa seca, masa fresca, número de yemas y longitud del microtubérculo para la variedad Cecilia, mientras que, al usar $0,6 \text{ mg.L}^{-1}$ de 6-BAP incrementó el valor en las variables ya mencionadas. Por otra parte, el TDZ ($0,06 \text{ mg.L}^{-1}$) incrementó el valor de las variables analizadas para la variedad Superchola por otro lado, no se formaron microtubérculos en la variedad Cecilia. El 2iP no influyó en el desarrollo de microtubérculos de papa Var, Superchola y Cecilia.

Palabras clave: Establecimiento, microtuberización, segmentos nodales, *Solanum tuberosum*.

ABSTRACT

In vitro microtuberization has become an alternative to produce certified seed to combat the use of conventional seed-tubers and avoid the phytosanitary problems that their use entails. The present investigation was developed with the purpose of evaluating certain factors that influence the establishment and microtuberization *in vitro* of nodal segments of *Solanum tuberosum* L. Var Superchola and Cecilia such as: different concentrations of agar and the effect of culture media (MS and MSG). *In vitro* microtuberization, the following factors were analyzed: effect of nitrate source, sucrose concentrations, lighting conditions, type of auxin, type of cytokinin and their concentrations. A completely randomized design was used in each experiment. It was determined that by adding 6 g.L⁻¹ of agar the highest number of nodes and number of leaves was reached for the Cecilia variety, on the other hand, the greatest length per plant was obtained in the Superchola variety with said concentration. The nodal segments were well established in the MS medium and MSG in the Var. Superchola and Cecilia. In the *in vitro* microtuberization phase, Ammonium Nitrate and Potassium Nitrate did not influence the formation of microtubers. The sucrose concentrations of 70, 80 and 90 g.L⁻¹ increased the diameter, fresh mass, dry mass and number of buds of the microtubers, on the other hand, in the Superchola variety the formation of microtubers did not occur. The lighting conditions used did not influence microtuberization in the Var. Superchola and Cecilia. The presence of auxins (ANA, AIA and AIB) and their concentrations did not influence the formation of microtubers. 6-BAP (0,8 mg.L⁻¹) increased the number of microtubers, diameter, dry mass, fresh mass, number of buds and microtuber length for the Cecilia variety, while when using 0,6 mg. L⁻¹ of 6-BAP increased the value in the aforementioned variables. On the other hand, the TDZ (0,06 mg.L⁻¹) increased the value of the variables analyzed for the Superchola variety, on the other hand, there were no microtubers in the Cecilia variety. The 2iP did not influence the development of potato microtubers Var. Superchola and Cecilia.

Keywords: Establishment, microtuberization, nodal segments, *Solanum tuberosum*.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Introducción

La papa es conocida como una planta herbácea perteneciente a la familia de las solanáceas, cuyo género es *Solanum*. Desde la antigüedad se le ha considerado como uno de los alimentos más importantes a nivel mundial, debido a su alto valor nutritivo equilibrado, ha permitido asegurar la soberanía alimentaria de varios países, posicionándolo entre los cuatro cultivos principales para la alimentación, además de ser una fuente económica primordial para el sustento de pequeños y grandes agricultores (Araque Barrera et al, 2018). Su reproducción puede ser asexual o sexual. Sin embargo, a nivel comercial la forma más empleada es asexualmente, haciendo uso de tubérculos - semilla, comúnmente consumida en los hogares (Mohapatra y Batra, 2017).

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) al tener una gran demanda en la economía de los países, ha generado que varios agricultores se dediquen a la producción de este cultivo. En su mayoría su propagación ha sido convencional, es decir, asexualmente haciendo uso de los tubérculos que son obtenidos mediante sistemas “informales de semilla”, adquiriendo así un escaso estatus sanitario (Moreno y Oropeza, 2017), además de verse limitado, debido a que la papa es una especie vegetativa muy propensa al ataque de agentes patógenos (bacterias, virus, plagas, hongos y viroides), inclusive es necesario controlar las condiciones edafoclimáticas como las altas temperaturas, humedad del suelo, salinidad, pH, disponibilidad de agua, entre otros, los cuales pueden afectar drásticamente el rendimiento y la calidad comercial del cultivo (Lourdes et al, 2017).

En varios países desarrollados estas limitaciones han sido manejadas con el uso consecutivo de semilla certificada, generadas por personas especializadas,

contribuyendo a una menor incidencia de patógenos en los cultivos (Ali et al, 2018). La implementación del cultivo *in vitro* de papa es una alternativa conveniente para la obtención de microtubérculos, debido a que permite la recolección de material vegetal con elevado nivel de pureza varietal, cabe mencionar que su multiplicación es rápida lo cual reduce el tiempo de obtención de la primera generación de semilla; además, pueden ser generados en cualquier periodo del año (Aguilar Maradiaga et al, 2016).

La microtuberización *in vitro* de papa a partir de segmentos nodales juegan un papel importante en la obtención de semilla con certificado sanitario, aprovechando pequeños fragmentos de material vegetal (Ali et al, 2018). Durante la microtuberización es necesario proporcionar las condiciones adecuadas a los explantes para su óptimo desarrollo, partiendo de la selección del material vegetal a usar, ya que a partir de este se procederá con las diferentes actividades para la obtención de microtubérculos, y por consiguiente es necesario proveer un medio de cultivo adecuado que incluya los componentes necesarios para el desarrollo de las plantas *in vitro* y de los microtubérculos (García et al, 2019).

Tomando en cuenta lo antes mencionado, en la presente investigación se propuso obtener microtubérculos de *Solanum tuberosum* L. Var Superchola y Cecilia a partir de segmentos nodales de plantas *in vitro* de papa en condiciones controladas de laboratorio, a través de la utilización de técnicas de micropropagación y del manejo del ecosistema *in vitro*, para lo cual se utilizó diferentes concentraciones de agar, medios de cultivo, fuente de nitrato, fuente de carbono y fitohormonas, entre los parámetros más importantes en este proceso se encuentra el protocolo de siembra de los segmentos nodales, el adecuado desarrollo de los diferentes procedimientos a seguir enriquecerá la producción de microtubérculos.

1.2. Antecedentes investigativos

Lourdes et al. (2017) a través de su artículo titulado “Obtención de microtubérculos y minitubérculos como semilla prebásica en tres cultivares peruanos de papa”, señalaron que tanto el método *in vitro* como el *ex vitro* permiten obtener un número de semillas y un peso de masa fresca adecuados para los micro y minitubérculos de papa en ciertos cultivares, además, mencionaron que es necesario realizar otros estudios en los que se evalúe diferentes condiciones de cultivo para obtener resultados favorables en las diferentes variedades existentes de papa.

Hossain et al. (2017) en su artículo titulado “Varietal evaluation of potato microtuber and plantlet in seed tuber production” afirmaron que es más viable el uso de microtubérculos para la obtención de minitubérculos a comparación del uso de plántulas *in vitro*, debido a las características favorables que presenta la planta durante su crecimiento y desarrollo, incluyendo un elevado porcentaje de supervivencia, no obstante el uso de plantas provenientes de plántulas produce un mayor número de minitubérculos.

Dhital y Lim (2012) en su investigación titulada “Microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) as influenced by supplementary nutrients, plant growth regulators, and *in vitro* culture conditions” mencionaron que las plántulas *in vitro* de papa produjeron un mayor número de microtubérculos y un tamaño adecuado, bajo factores de un ambiente controlado en laboratorio como: el medio nutritivo, porcentaje de sacarosa, nutrientes adicionados al medio y reguladores de crecimiento, con las concentraciones adecuadas para los cultivares existentes.

Ali et al. (2018) en su investigación sobre el efecto de los reguladores de crecimiento y la sacarosa, mencionaron que los reguladores de crecimiento y la sacarosa como fuente de energía permiten acelerar la obtención de microtubérculos de papa con características favorables como son mayor número de microtubérculos por planta y mayor peso fresco

por microtubérculo. Sin embargo, al ser usadas en concentraciones altas actúan negativamente en el crecimiento y desarrollo tanto del explante como en la producción de microtubérculos.

Al-Shareefi et al. (2020) a través de su artículo titulado “Effect of light sources and culture systems on microtubes production of potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro*” mencionaron que la concentración de sacarosa y la iluminación intervienen positivamente en la tuberización *in vitro* de papa, por lo cual probaron diferentes concentraciones de sacarosa y días de exposición a luz obteniendo resultados favorables al usar 80 g.L⁻¹ de sacarosa en el medio MS y 10 días de luz continua antes de introducirlos a oscuridad total, mientras que al usar 60 g.L⁻¹ de sacarosa con 5 días de luz se redujo el número de microtubérculos por planta, su peso y diámetro.

Araque Barrera et al. (2018) mediante su artículo titulado “Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa”, evaluaron el medio de sales MS suplementado con reguladores de crecimiento ANA, AIB y NaOCl como desinfectante, mientras que en la fase de microtuberización emplearon el medio MS+ Kinetina o BA, obteniendo un número masivo de microtubérculos a partir del medio MS acompañado de la hormona BA en una concentración de 2,5 mg.L⁻¹.

Momena et al. (2014) en su artículo titulado “*In vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivas through sucrose and growth regulator”, mencionaron que los reguladores de crecimiento Kinetina y 6-BAP favorecieron la microtuberización *in vitro* de papa, de este modo experimentaron con diferentes concentraciones de Kinetina y 6-BAP, que fueron adicionados al medio MS con diferentes concentraciones de sacarosa, demostraron que el tratamiento que incluía 8% de sacarosa, 4 mg.L⁻¹ de Kinetina y 1 mg.L⁻¹ de 6-BAP aumentó considerablemente las características físicas de los microtubérculos como el peso y diámetro, del mismo modo el número de microtubérculos fue mayor respecto a los otros tratamientos.

Yagiz et al. (2020) en la investigación realizada sobre el efecto de reguladores de crecimiento en la microtuberización *in vitro* de papa, emplearon diferentes reguladores de crecimiento (6-BAP, Kinetina, Zeatina, Thidiazuron, Clororuro de clorocolina y ácido succínico 2,2 -dimetilhidrazina), donde demostraron que el TDZ 0,1 mg.L⁻¹ genera mejores rendimientos en la producción de microtubérculos con respecto a su tamaño y peso.

Liljana et al. (2012) mediante su artículo titulado “Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L.”, evaluaron diferentes concentraciones y combinaciones de reguladores de crecimiento (Auxinas y citoquininas) para promover la formación de microtubérculos, se demostró que el medio MS suplementado con 2 mg.L⁻¹ de 6-BAP + 1 mg.L⁻¹ de ANA, aumentó el porcentaje de formación de microtubérculos con un 13,33%, mientras que la combinación de medio MS con 4 mg.L⁻¹ de Kinetina + 1 mg.L⁻¹ de AIA produjo un 10% de microtubérculos. Sin embargo, estos autores señalaron que la formación de microtubérculos tiene dependencia del genotipo a usar y la concentración de sacarosa en el medio de cultivo.

1.3. OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener microtubérculos de *Solanum tuberosum* variedades Superchola y Cecilia en condiciones *in vitro*.

Objetivos específicos

1. Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.
2. Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.

3. Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.
4. Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.

1.4. Características fundamentales o marco conceptual

1.4.1. Generalidades

La papa *Solanum tuberosum* L. forma parte de los cuatro cultivos más consumidos a nivel mundial, convirtiéndose en un alimento esencial en la dieta diaria de las personas, debido a su importante aporte de energía por la fuente de carbohidratos que proporciona tras su consumo, además de estar constituida de micronutrientes tales como Hierro (Fe) y Zinc (Zn). Debido a la gran demanda que genera este cultivo su producción se ha visto extendida por las zonas andinas (Perú, Colombia, Bolivia, Ecuador, otros) cultivándose actualmente más de 4000 variedades nativas, satisfaciendo las necesidades alimentarias de la población y siendo un rubro importante de ingresos (Ordinola y Devaux, 2021).

En Ecuador su producción está constituida en las zonas altas andinas, siendo la provincia de Carchi una de las más productivas de papa con 18.84 t/ha dividida entre pequeños productores con el 55.45%, medianos productores 34.65% y grandes productores con 9.90%, esta última a pesar de pertenecer al porcentaje más bajo de productores de papa ha sido la que mayor rendimiento ha generado (34.09 t/ha), la cual se ha visto beneficiada por el manejo de la agricultura semi tecnificada disminuyendo la incidencia de plagas y enfermedades (Basantes et al, 2020).

Uno de los principales inconvenientes que se presenta en la producción del cultivo de papa es la dificultad que tienen los pequeños y medianos agricultores en adquirir semilla certificada, haciendo uso de tubérculos semilla que se pueden obtener en diferentes plazas, de anteriores cosechas o la misma papa que se consume, sin saber su procedencia

y calidad, lo cual se muestra como una limitante en el rendimiento del cultivo y por ende los ingresos adquiridos no cubrirán lo invertido (Racines Jaramillo et al, 2021).

1.4.2. Clasificación Taxonómica de la papa

Según Reddy et al. (2018) la clasificación taxonómica de la papa *S. tuberosum* está catalogada de la siguiente manera.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la papa S. tuberosum.

TAXONOMÍA	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanáceas
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>S. tuberosum</i>

1.4.3. Descripción botánica

Sahair et al. (2018) manifestaron que la papa es una planta herbácea, anual con diferentes hábitos de crecimiento por su diversidad de variedades, las cuales presentan las siguientes características botánicas:

Sistema radicular: la planta de papa posee una raíz pivotante fibrosa.

Tallo: en las primeras etapas de la papa el tallo es erecto, según van avanzando las etapas se torna proliferante.

Hojas: presenta hojas alternas, compuestas e imparipinadas, con una forma lanceolada, con 6 a 8 pares de foliolos, el peciolo tiene una longitud de entre 2,5 a 5 centímetros.

Tubérculos: son considerados como tallos carnosos comestibles, poseen yemas por donde se dan nuevos brotes.

Inflorescencias: las flores son bisexuales donde se realizan dos polinizaciones la cruzada por vectores externos y autopolinización.

Frutos: es una baya cuya forma puede variar entre redonda, alargada u ovalada, dentro de ella posee una gran cantidad de semillas.

1.4.4. Condiciones edáficas y climáticas

Zuñiga et al. (2017) manifestaron las siguientes condiciones edafoclimáticas para el cultivo de papa:

Suelo

El cultivo de papa tiene gran adaptabilidad a varios tipos de suelos, favorablemente a los francos-arcillosos debido a que tienen buena aeración, retención de humedad además, son ricos en humus, profundos y con buen drenaje para evitar la pudrición de los tubérculos-semilla, el cultivo de papa es tolerante a diferente pH. Sin embargo, el ideal se encuentra entre 5,5 a 6.

Temperatura

La papa es considerada una planta termo periódica, necesita de un clima templado-frío con temperatura promedio entre 17-23°C, además necesita una variación entre los días y las noches de 10 a 25 °C en la atmósfera, la temperatura del suelo debe ser superior a 7 °C, los tubérculos pueden verse afectados al presentar temperaturas muy bajas perjudicándolos en su tamaño y desarrollo, por otra parte, al presentar temperaturas muy altas puede aumentar la incidencia de plagas y enfermedades.

Humedad

Una humedad adecuada en el cultivo de papa es importante para el desarrollo adecuado de los tubérculos, al existir demasiada humedad al momento de la brotación, floración y maduración de los tubérculos resulta perjudicial para la planta.

Iluminación

La cantidad de luz adecuada para la papa varía según la temperatura, los periodos aproximados de iluminación adecuado están entre 8 a 12 horas e inclusive 16 horas de luminosidad. Los fotoperiodos cortos favorecen la formación de tubérculos. Por otra parte, los fotoperiodos largos favorecen el crecimiento.

1.4.5. Ciclo vegetativo

De acuerdo con Vignola et al. (2017) el cultivo de papa posee las siguientes fases fenológicas:

Emergencia o brotación: se da a partir de la siembra de los tubérculos-semilla, esta etapa depende del tipo de almacenamiento que se ha implementado con los tubérculos, la variedad y la brotación del tubérculo.

Crecimiento de brotes laterales: en esta fase se da el desarrollo de la parte aérea de la planta (tallos, ramas y hojas), mientras que en la parte subterránea se presenta la expansión de los estolones.

Iniciación de la tuberización: a partir de la formación de los estolones se empieza a desarrollar los tubérculos los cuales son tallos modificados de almacenamiento.

Desarrollo del tubérculo: se da al inicio de la floración, en esta fase se da el llenado de los tubérculos por la gran cantidad de agua, carbohidratos y nutrientes presentes en las plantas.

Maduración: en esta última fase la planta pierde su desarrollo, crecimiento y fotosíntesis, se empieza a tornar amarillenta hasta que mueren, por otra parte, la piel de los tubérculos se espesa y suberifica, por tanto, se endurece permitiendo protección de este para la cosecha.

1.4.6. Métodos de propagación de la papa

Sexual

La propagación sexual de la papa parte de las semillas que se encuentran dentro del fruto denominado como baya, esta puede variar tanto en forma y color por las diferentes variedades de *S. tuberosum*, por lo general cada baya posee entre 200-400 SSP (semilla sexual de papa) (Castro et al, 2012). Las plantas propagadas por semillas poseen dos cotiledones y una raíz principal o pivotante a diferencia de las plantas que se obtienen de tubérculos las cuales se caracterizan por contar con un sistema radical fibroso (Graziano, 2011).

Asexual

La propagación de la papa tradicionalmente se realiza de manera vegetativa o asexual, por tal motivo las plantas llegan a ser clones de la planta madre, por lo general para propagar asexualmente los agricultores hacen uso de tubérculos-semilla arriesgándose al ataque de diferentes microorganismos (Sauca y Santiago, 2009). En menor medida se hace uso del método de propagación de tejidos vegetales bajo condiciones controladas y asépticas, para la producción de plantas *in vitro* y microtubérculos, destinados para la producción de minitubérculos que pueden ser usados para conservación del germoplasma o para la obtención de tubérculos semilla certificados (Castro et al, 2012).

1.4.7. El cultivo *in vitro* de papa

Morais et al. (2018) afirmaron que el proceso *in vitro* de papa permite obtener descendencia clonal idéntica a la planta donante, lo cual, consiste en colocar diferentes fragmentos de una planta madre, ya sean estos segmentos nodales del tallo, brotes, meristemas, entre otros, bajo condiciones asépticas en un medio nutritivo líquido o semisólido, proporcionando un porcentaje adecuado de fuentes de carbono (sacarosa) y reguladores de crecimiento y garantizando del control de factores ambientales físicos y químicos.

1.4.8. Factores que influyen en la microtuberización *in vitro* de papa

1.4.9. Medio de cultivo

Murashige y Skoog (MS)

El medio basal de Murashige y Skoog 1962, ha sido usado ampliamente por una gran variedad de especies vegetales tanto en dicotiledóneas como en monocotiledóneas, empleándolo en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, debido a que están enriquecidos

con sales basales (macronutrientes y micronutrientes), vitaminas, fuente de carbono (sacarosa) y reguladores de crecimiento (auxinas, citoquininas o giberelinas), proporcionando las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo de pequeños fragmentos de material vegetal (Phillips y Garda, 2019).

Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg

El medio MSG está descrito por Murashige y Skoog en el año de 1962 y fue complementado por Gamborg y otros en 1968. Su composición está formulada con macro y micronutrientes señalados por Murashige y Skoog, mientras que las vitaminas fueron incluidas por Gamborg y otros. El medio MSG ha sido empleado para el cultivo de tejidos vegetales, debido a su capacidad de incrementar el metabolismo de plantas *in vitro*, favoreciendo la actividad fotosintética de estas (Ledea et al, 2020).

Agente gelificante

En la actualidad existen distintos tipos de agentes gelificantes que permiten mantener al medio de cultivo en estado semisólido o sólido, entre los cuales se puede mencionar a los siguientes: guar, gelrite, phytigel, agar y cassia (Gordo et al, 2012). Entre estos el agar está constituido de un conjunto de polisacáridos que son extraídos de las paredes de algas marinas, a partir de este se puede emplear el cultivo de microorganismos y de tejidos vegetales, en este último el agar trabaja como sostén para diferentes porciones de una planta (López-Escamilla et al, 2016).

Fuente de Nitrógeno

El nitrógeno es un macronutriente que ha sido considerado de importancia sobre el desarrollo de las plantas, al igual en el crecimiento y formación de tubérculos en el cultivo de papas. En distintos medios de cultivo se incorporaron en forma de nitratos tales como el nitrato de amonio (NH_4NO_3) donde el Nitrógeno posee una concentración

entre 33% a 34% y por otra parte nitrato de potasio (KNO_3) posee 13% de Nitrógeno (Tacoronte et al, 2017).

1.4.10. Fuente de carbono

Sacarosa

Ghorbani et al. (2017) mencionaron que entre los factores más importantes a considerar en la preparación del medio de cultivo es la sacarosa, debido a que esta aporta energía metabólica a las plantas que se encuentran dentro de un ambiente artificial. Las plantas en condiciones *in vitro* cuando utilizan fuentes de carbono como azúcares, desarrollan un metabolismo mixotrófico (Bridgen et al, 2018).

1.4.11. Fitohormonas

Las fitohormonas son compuestos orgánicos que se puede producir en la parte interna de las plantas (reguladores de crecimiento) o a través de compuestos químicos (reguladores sintéticos), trabajan en muy bajas concentraciones a nivel celular influyendo en los procesos fisiológicos de las plantas. Se se conocen tres grandes grupos de reguladores de crecimiento por su acción que tienen en las plantas: promotores (Auxinas, Citoquininas, Giberelinas y Etileno), inhibidores (Ácido abscísico) y Retardantes (aminoetoxi-vinil-glicina) (Cossio, 2013)

Auxinas

Este regulador de crecimiento fue uno de los primeros en ser descubierto, puede encontrarse en gran parte de los tejidos de las plantas en su mayoría en la parte que se encuentra en crecimiento activo, entre las auxinas más utilizadas están: ácido naftalenacético (ANA), ácido indol 3 acético (AIA) y ácido indol 3 butírico (AIB) (Jordán y Casaretto, 2006).

Citoquininas

Las citoquininas son reguladores de crecimiento que intervienen en el crecimiento y desarrollo de las plantas, se encuentra en varias especies vegetales como en las semillas de maíz, aparte de encontrarse como hormona vegetal hay reguladores sintéticos que son usados para el cultivo de tejidos vegetales o en campo entre las que se puede mencionar: TDZ, 6-BAP y 2-iP (Jordán y Casaretto, 2006).

Giberelinas

Son hormonas vegetales que están constituidas por 19-20 carbonos, intervienen principalmente en la división celular de los tejidos vegetales, interactuando en los procesos fisiológicos de las plantas como la germinación de semillas, crecimiento de tallo, floración, desarrollo de los frutos y semillas, entre las giberelinas más utilizadas está el AG₃ (ácido giberélico) (Bohorquez et al, 2011).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del proyecto de investigación.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCAPG), perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua.

2.2. Características del lugar.

Para la microtuberización *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Superchola y Cecilia se hará uso del laboratorio de biotecnología, que se encuentra establecido en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, situado a 19.31 km, al Sureste de Ambato, en el canto Cevallos, provincia de Tungurahua. Con una altitud de 2850 msnm, cuyas coordenadas geográficas son: 01° 24' 27" de latitud Sur y 78° 35' 00" de longitud al Oeste.

2.3. Equipos y materiales.

2.3.1. Material experimental.

El material experimental está constituido por plantas *in vitro* de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

2.3.2. Equipos.

- Autoclave (MIDMARK).
- Balanza analítica (OHAUS - Pioneer™).

- pH metro (BANTE 900).
- Destilador de agua (DIRECT – Q / MILLOPONE).
- Microondas (PANASONYC).
- Cabina de flujo laminar (PURIFIER™ - MAGELLAN).
- Refrigerador (INDURAMA).
- Micropipetas (THERMO SCIENTIFIC).
- Estufa.
- Calibrador (CUMMINGS TOOL)

2.3.3. Materiales.

- Plantas de papa *in vitro* variedad Superchola y Cecilia.
- Medio de cultivo MS (Phytotech).
- Medio de cultivo MS con vitaminas de Gamborg (Phytotech).
- Frascos de vidrio (250 ml).
- Agar (en polvo para cultivo de tejidos vegetales – Agar SIGMA 1kg).
- Sacarosa (Azúcar blanca Valdez).
- Ácido cítrico (SIGMA).
- Hidróxido de sodio (LOBA CHEMIE).
- Nitrato de amonio (NH_4NO_3).
- Nitrato de potasio (KNO_3).
- ANA (Ácido 1- naftalenacético) (SIGMA).
- IBA (Ácido indol -3- butírico) (SIGMA).
- AIA (Ácido Indol Acético) (LOBA CHEMIE).
- 6-BAP (6-Benzilaminopurina) (Caisson labs).
- 2iP (N-isopentil adenine) (Caisson labs).
- TDZ (Thidiazuron) (Caisson labs).
- Tubos de ensayo (20 mm*150 mm) (25 mm*250 mm).
- Frascos de vidrio (250 ml).

- Etiquetas adhesivas.
- Pinzas metálicas (MEDITEC 18 cm).
- Fundas plásticas.
- Placas metálicas.
- Mecheros de alcohol.
- Matraz Erlenmeyer (1000 ml, 500 ml, 250 ml).
- Estantes metálicos y de vidrio.
- Papel aluminio (DIAMOND).
- Bata quirúrgica.
- Zapatones.
- Mascarillas.
- Alcohol 70% y 90% (WEIR).
- Probetas (50 ml).
- Esferos (BIG).
- Detergente solido (DEJA).
- Pipetas plásticas pequeñas (1ml).
- Hipoclorito de Sodio al 5% (ALL CLORO).
- Puntas de micropipetas.
- Gorros quirúrgicos.
- Jabón líquido (Recamier).
- Cucharillas medidoras metálicas.
- Vasos de precipitación (500 ml, 50 ml).
- Agua desionizada.
- Bisturí (STAINLESS N°4).
- Hojas de bisturí N°23.
- Cuaderno cuadriculado espiral (NORMA).

2.4. Factores de estudio.

2.4.1. Objetivo N° 1: Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.

- **Factor N° 1.** Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de papa.
- **Factor N° 2.** Influencia de dos medios de cultivo (MS y MS con vitaminas de Gamborg) en el establecimiento *in vitro* de papa (Var. Superchola y Cecilia).
- **Factor N° 3.** Influencia del nitrato de amonio y nitrato de Potasio en la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

2.4.2. Objetivo N° 2: Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

2.4.3. Objetivo N° 3: Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia de las diferentes condiciones de iluminación en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

2.4.4. Objetivo N° 4: Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia del tipo de auxina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

Factor N°2: Influencia del tipo de citoquinina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

2.5. Tratamientos.

2.5.1. Objetivo N° 1: Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.

Factor N° 1. Influencia del Agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de papa.

Tabla 2

Influencia de concentraciones de Agar para la etapa de establecimiento de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Superchola y Cecilia.

CONCENTRACIONES DE AGAR	
AGAR	CONTROL
6 g.L ⁻¹	
7 g.L ⁻¹	
8 g.L ⁻¹	MEDIO LÍQUIDO
9 g.L ⁻¹	
10 g.L ⁻¹	

Factor N° 2. Influencia de dos medios de cultivo MS y MS con vitaminas de Gamborg en el establecimiento *in vitro* de papa (Var. Superchola y Cecilia).

- Medio Murashige y Skoog (4,43 g.L⁻¹ de MS).
- Medio Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg (4,44 g.L⁻¹ de MSG).

- Control sin medio de cultivo.

Factor N° 3. Influencia del Nitrato de amonio y Nitrato de Potasio en la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

- Nitrato de amonio (2 g.L⁻¹ NH₄NO₃).
- Nitrato de Potasio (1,75 g.L⁻¹ de KNO₃).
- Control sin Nitrato.

2.5.2. Objetivo N° 2: Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

Tabla 3

Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa en la formación de microtubérculos de papa S. tuberosum L. Var. Superchola y Cecilia.

CONCENTRACIONES DE FUENTE DE CARBONO	
Sacarosa	CONTROL
60 g.L ⁻¹	
70 g.L ⁻¹	
80 g.L ⁻¹	SIN FUENTE DE CARBONO
90 g.L ⁻¹	
100 g.L ⁻¹	

2.5.3. Objetivo N°3: Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia de las diferentes condiciones de iluminación en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

- Luz blanca fluorescente continua.
- Oscuridad total.
- 48 horas luz y 48 horas oscuridad.

2.5.4. Objetivo N° 4: Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.

Factor N°1: Influencia del tipo de auxina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

Tabla 4

Influencia de concentraciones de auxinas para la formación de microtubérculos de papa S. tuberosum L. Var. Superchola y Cecilia.

CONCENTRACIONES DE AUXINAS			
ANA	AIB	AIA	CONTROL
0,06 mg.L ⁻¹	0,15 mg.L ⁻¹	0,06 mg.L ⁻¹	
0,05 mg.L ⁻¹	0,20 mg.L ⁻¹	0,05 mg.L ⁻¹	
0,1 mg.L ⁻¹	0,25 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹	SIN AUXINAS
0,12 mg.L ⁻¹	0,30 mg.L ⁻¹	0,12 mg.L ⁻¹	
0,14 mg.L ⁻¹	0,35 mg.L ⁻¹	0,14 mg.L ⁻¹	

Nota: ANA= ácido naftalenacético; AIA= ácido indolacético; AIB= ácido indolbutírico.

Factor N°2: Influencia del tipo de citoquinina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

Tabla 5

Influencia de concentraciones de citoquininas para la formación de microtubérculos de papa S. tuberosum L. Var. Superchola y Cecilia.

CONCENTRACIONES DE CITOQUININAS			
2iP	TDZ	BAP	CONTROL
0,6 mg.L ⁻¹	0,06 mg.L ⁻¹	0,6 mg.L ⁻¹	SIN CITOQUININAS
0,8 mg.L ⁻¹	0,05 mg.L ⁻¹	0,8 mg.L ⁻¹	
1,0 mg.L ⁻¹	0,1 mg.L ⁻¹	1,0 mg.L ⁻¹	
1,2 mg.L ⁻¹	0,12 mg.L ⁻¹	1,2 mg.L ⁻¹	
1,4 mg.L ⁻¹	0,14 mg.L ⁻¹	1,4 mg.L ⁻¹	

Nota: 2iP = N-isopentil adenina; TDZ = thidiazuron; BAP = 6-benzilaminopurina.

2.6. Diseño experimental

Se utilizó para los ensayos del objetivo 1, 2 y 3 un diseño completamente aleatorizado con 10 repeticiones para cada ensayo. En el caso del objetivo 4 se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones para cada ensayo con 2 unidades experimentales.

2.7. Hipótesis

H₀: Mediante el establecimiento de segmentos nodales de papa (Var. Superchola y Cecilia) y el análisis de factores asociados al ecosistema *in vitro* no se podría inducir a la microtuberización de papa.

H₁: Mediante el establecimiento de segmentos nodales de papa (Var. Superchola y Cecilia) y el análisis de factores asociados al ecosistema *in vitro* se podría inducir a la microtuberización de papa.

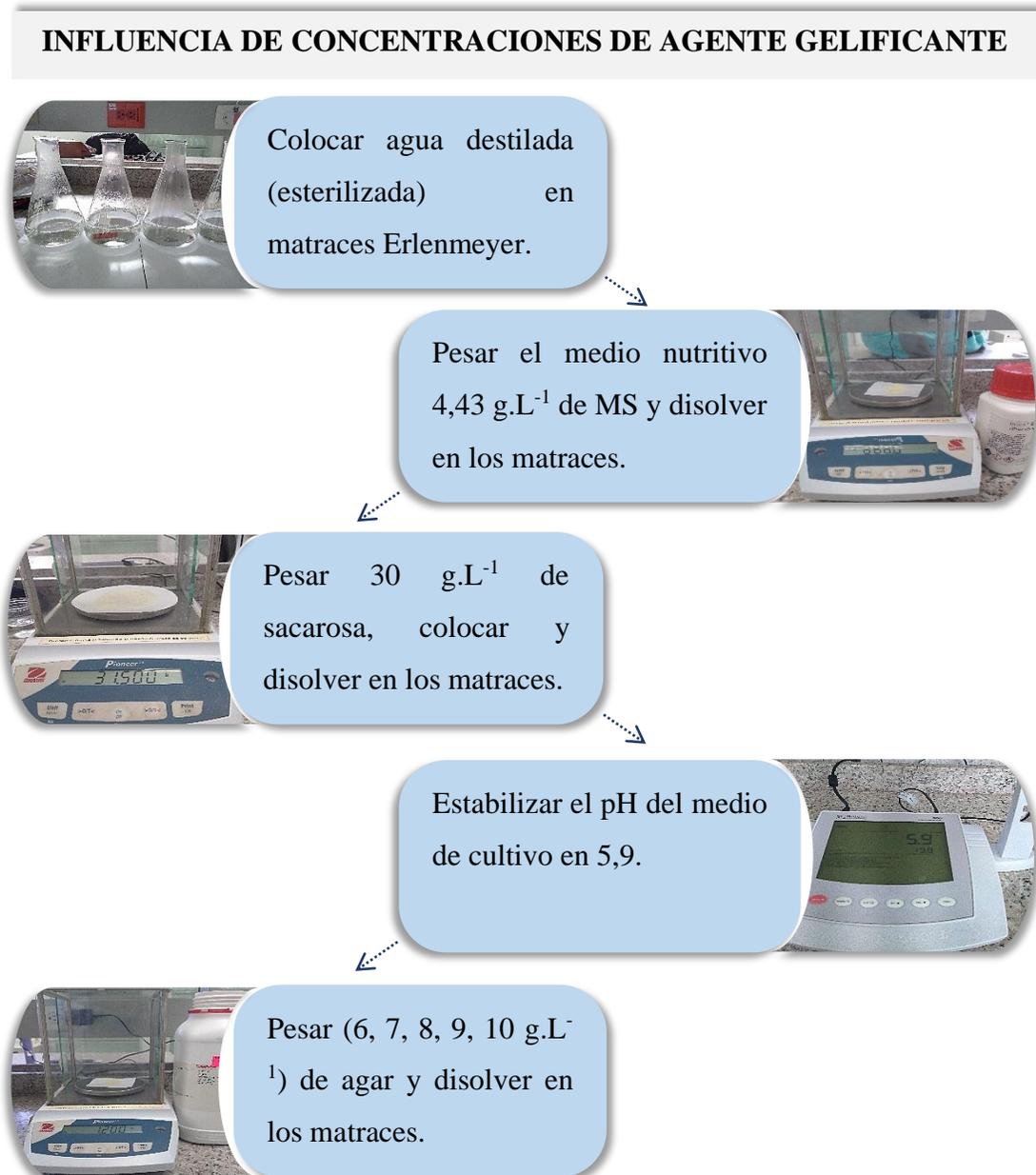
2.8. Manejo del experimento

2.8.1. Objetivo 1. Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.

Para la producción de microtubérculos a partir de segmentos nodales como explantes se llevó a cabo el procedimiento detallado en la siguiente figura.

Figura 1

*Diagrama de actividades realizado para la preparación de medio de cultivo con diferentes concentraciones de Agar para el establecimiento in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. *Superchola* y *Cecilia*.*



Disolver y calentar el medio de cultivo en el microondas por 10 min.



Colocar 20 ml de medio en los frascos, cubrir con papel aluminio y ajustar.



Autoclavar los frascos dispensados por un tiempo de 40 min a 110°.



Retirar los frascos autoclavados y mantener en la cámara de flujo.



Figura 2

*Diagrama de actividades realizadas para el manejo del ensayo en la cámara de flujo laminar para el establecimiento in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. *Superchola* y *Cecilia*.*

MANEJO DE ENSAYO EN CÁMARA DE FLUJO LAMINAR.



Esterilizar en la autoclave los materiales para la siembra (pinzas, mango de bisturí, bata, cofia, agua destilada, frascos, cuadros de papel aluminio y placa metálica) durante un periodo de 40 minutos a 110° C.

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



Encender la luz UV de la cámara de flujo por un tiempo de 20-30 minutos.

Encender los mecheros, colocar agua destilada en 2 frascos, en el sobrante llenar con alcohol al 70%, donde se ubicarán las pinzas y bisturís, retirar el papel aluminio de los materiales y antes de usarlos



Flamear las pinzas y el bisturí en el mechero, enfriarlos en agua destilada y retirar la planta *in vitro* del frasco, colarla en la placa metálica y con el bisturí realizar cortes de segmentos nodales con 1 o 2 nudos.



Destapar el frasco que contiene el medio de cultivo, se procede a flamear la boca del frasco, con las pinzas tomar los explantes e introducirlos, procurando que los segmentos nodales no tengan contacto con el

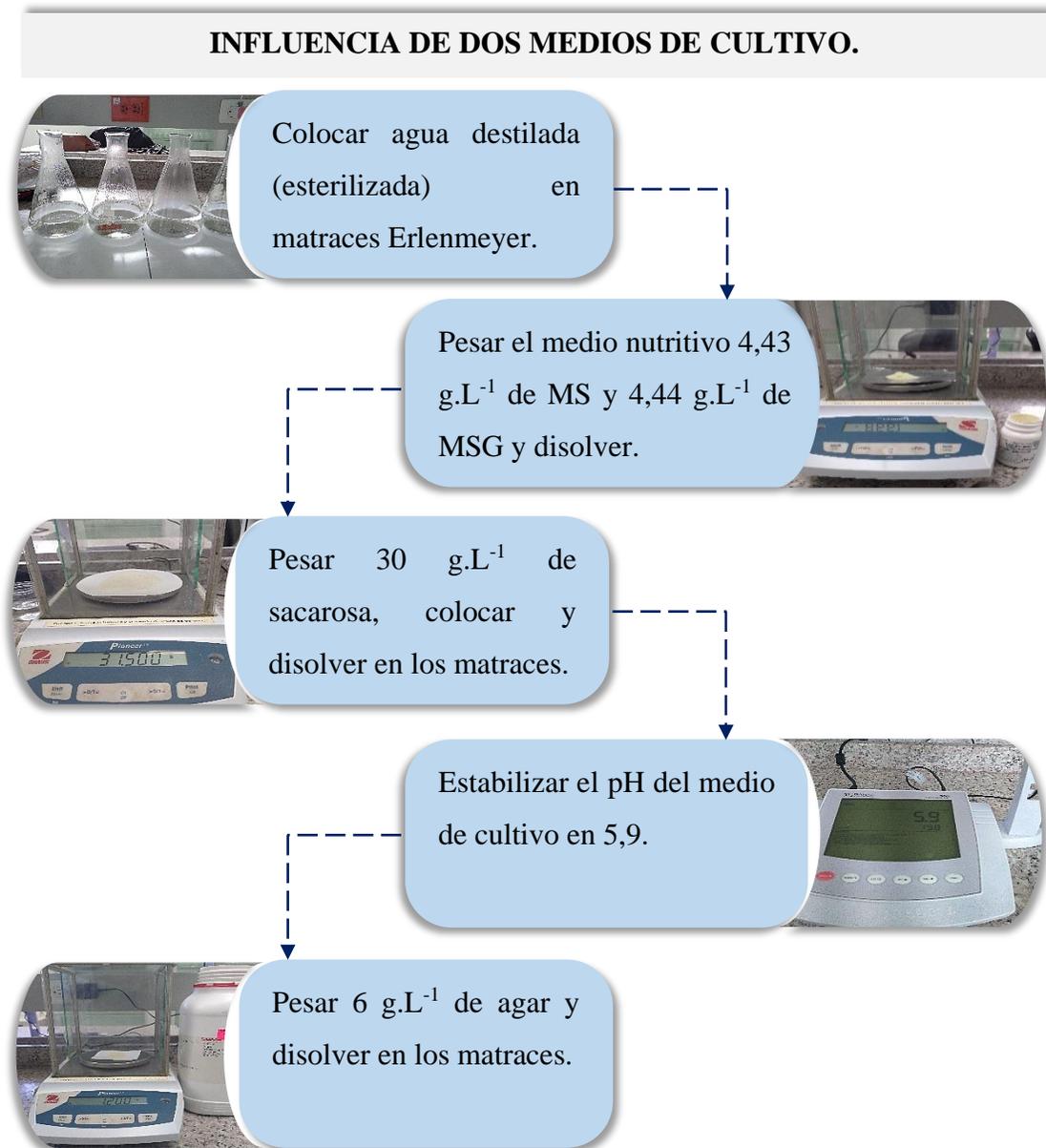
Procedemos a tomar con las pinzas el papel aluminio y flamear, por último, asegurar con una liga.



Al terminar la siembra los frascos se trasladan al área de transferencia, la cual consta de una temperatura de 24°C y luz blanca fluorescente continua.

Figura 3

*Diagrama de actividades realizadas para el establecimiento in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. *Cecilia* y *Superchola*, preparación de dos medios de cultivo.*



Disolver y calentar el medio de cultivo en el microondas por 10 min.



Colocar 20 ml de medio en los frascos, cubrir con papel aluminio y ajustar.



Autoclavar los frascos dispensados por un tiempo de 40 min a 110°.

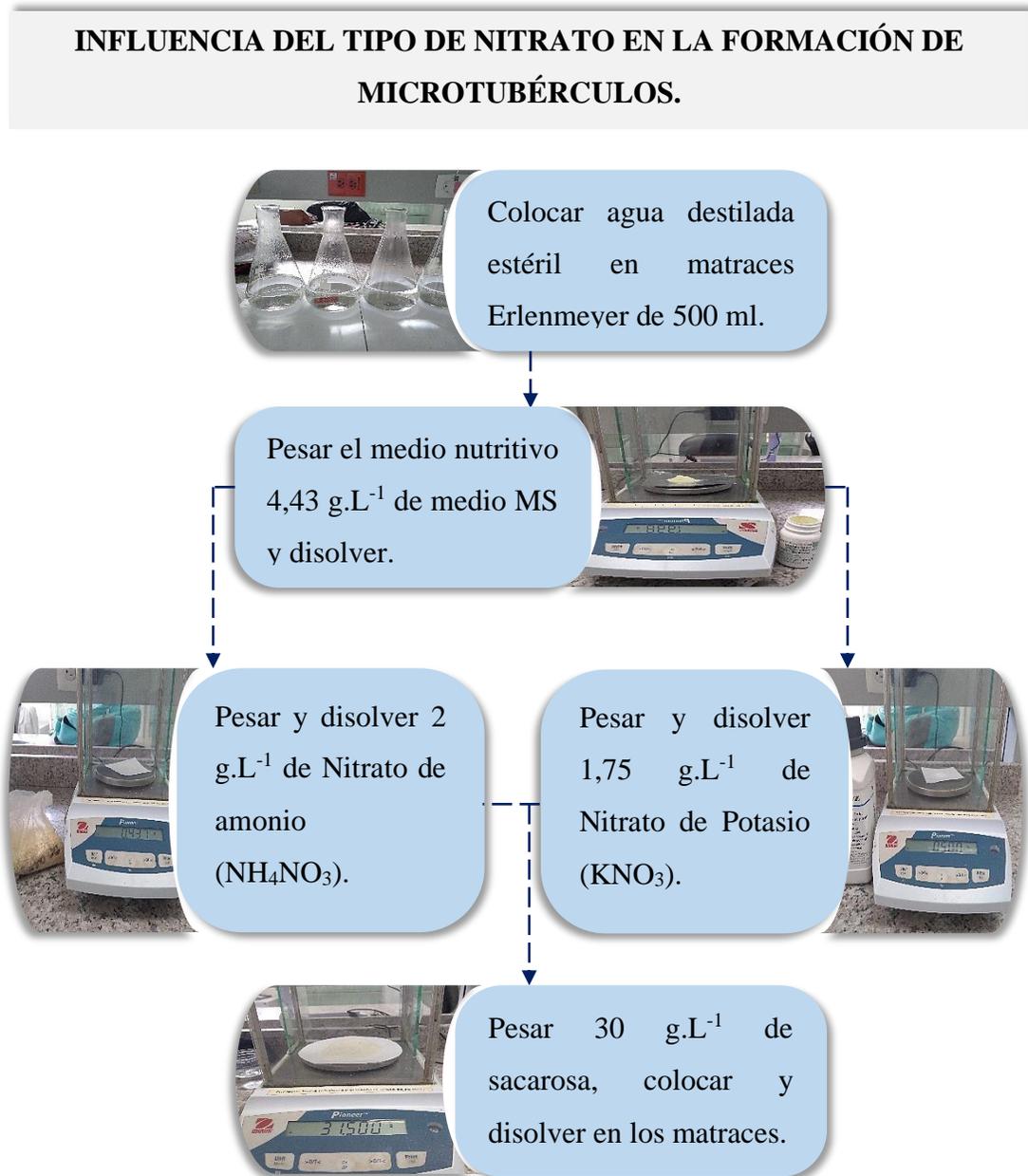


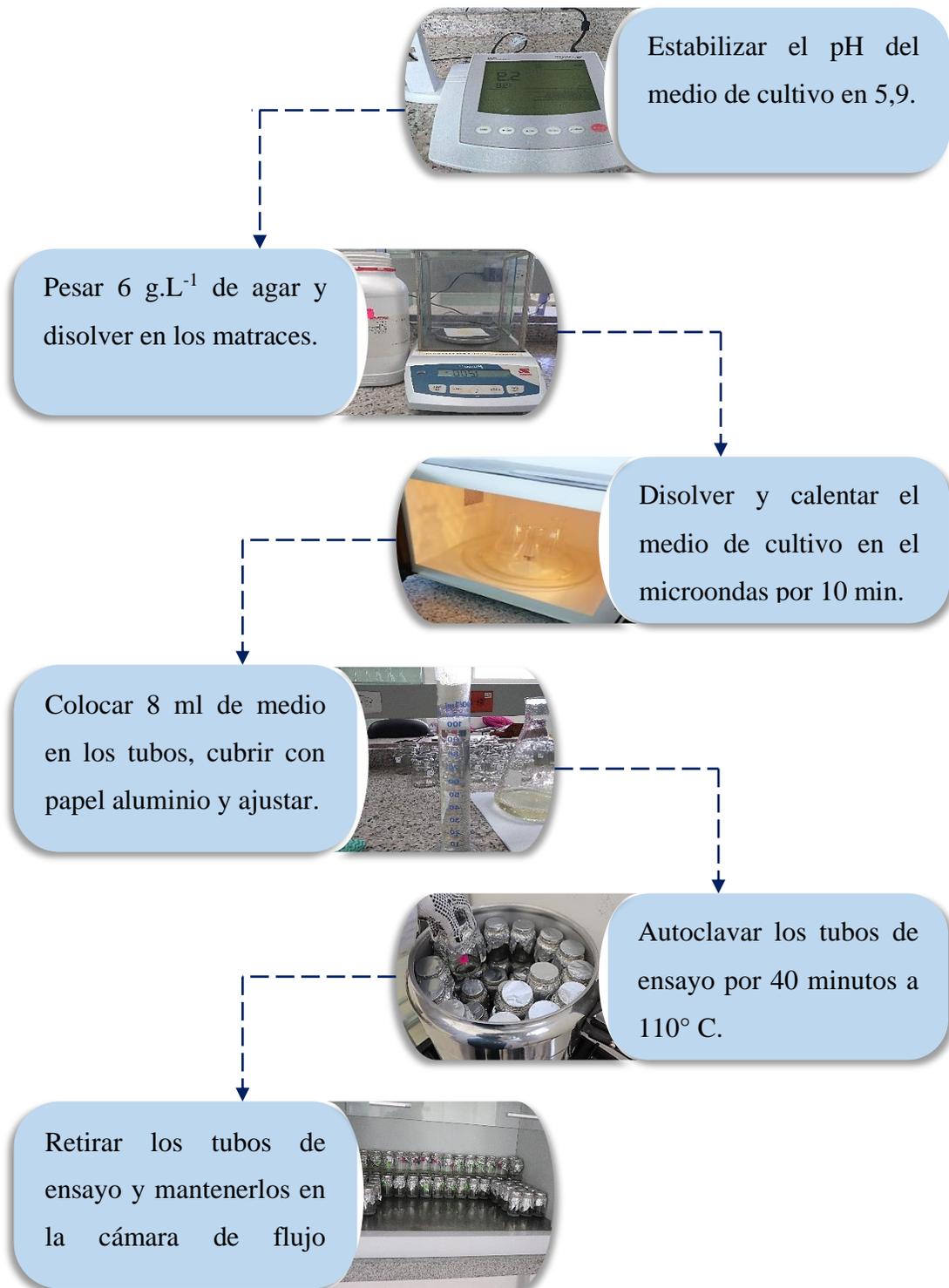
Retirar los frascos autoclavados y mantener en la cámara de flujo.



Figura 4

*Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto dos tipos de Nitratos (NH_4NO_3 , KNO_3) en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. *Cecilia* y *Superchola*.*

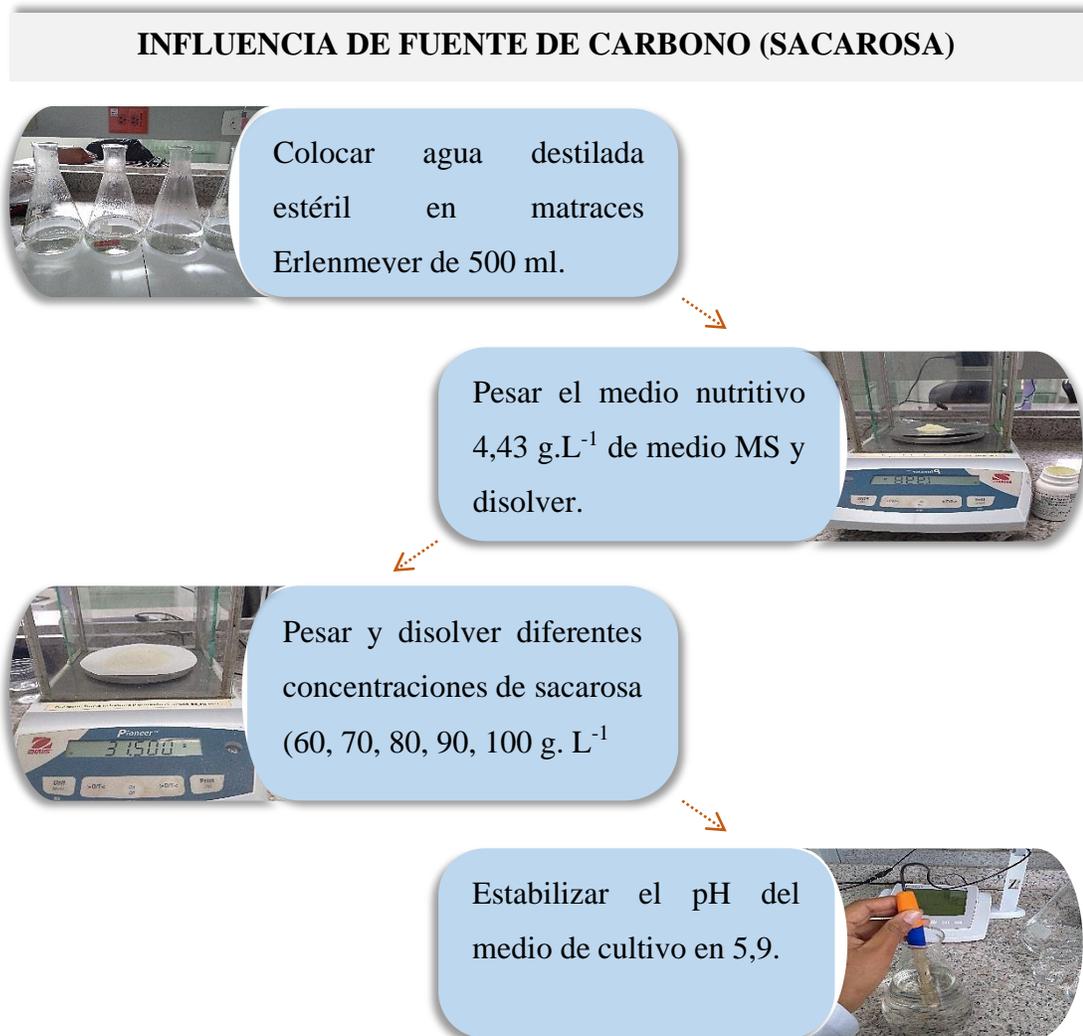




2.8.2. Objetivo 2. Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.

Figura 5

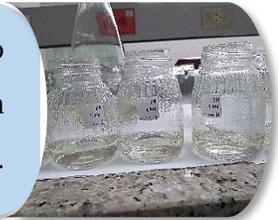
*Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de diferentes concentraciones de sacarosa en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Cecilia y Superchola.*





Pesar 6 g.L⁻¹ de agar y disolver calentándolo en el microondas por 10 min.

Dispensar 20 ml de medio por frasco, cubrir con papel aluminio y ajustar.



Autoclavar los frascos dispensados por un tiempo de 40 min a 110°.



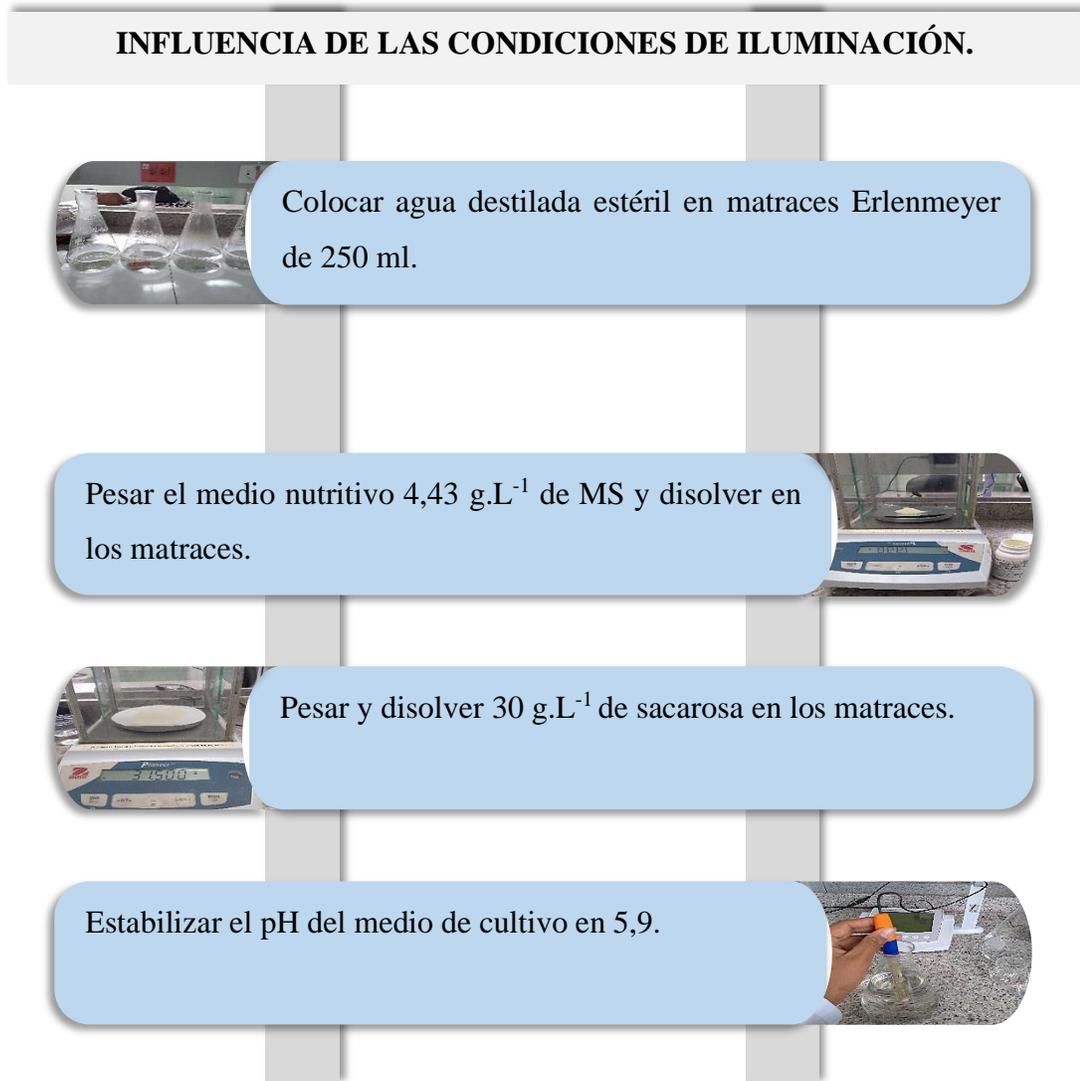
Retirar los frascos autoclavados y mantener en la cámara de flujo.



2.8.3. Objetivo 3. Evaluar el efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.

Figura 6

*Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de la iluminación en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Cecilia y Superchola.*





Pesar 6 g.L⁻¹ de agar y colocar en los matraces, calentar en el microondas por 10 min.

Dispensar 8 ml de medio por tubo de ensayo, cubrir con papel aluminio y ajustar con ligas.



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

Retirar los tubos de ensayo y mantenerlos en la cámara de flujo laminar.

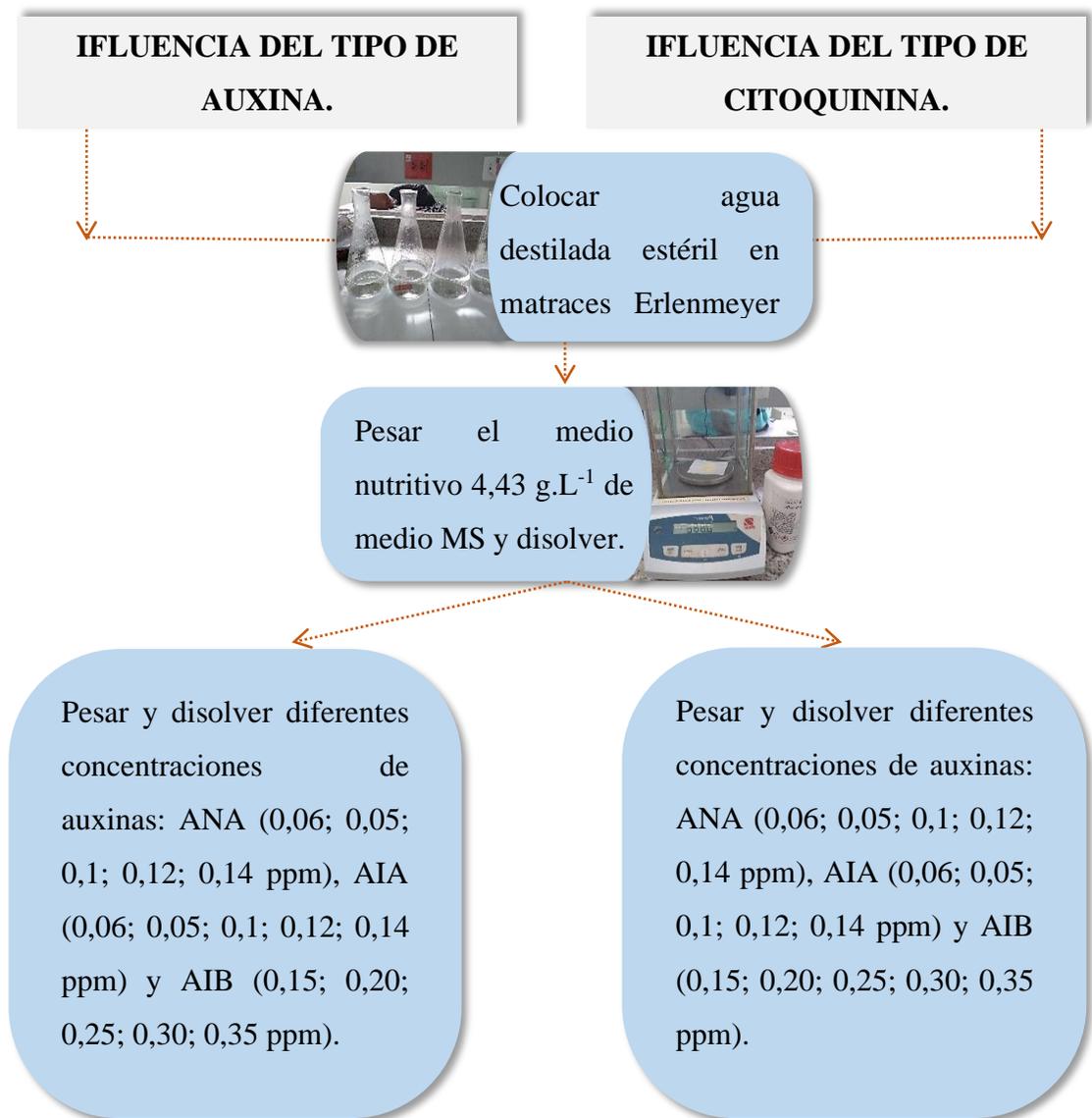


Preparar un área de luz blanca fluorescente continua, oscuridad total y 48 horas luz y 48 horas oscuridad.

2.8.4. Objetivo 4. Determinar el efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.

Figura 7

Diagrama de actividades realizado para determinar los efectos de auxinas y citoquininas en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum var. Cecilia y Superchola.



Pesar 30 g.L⁻¹ de sacarosa y disolver en los matraces.



Estabilizar el pH del medio de cultivo en 5,9.



Pesar y disolver 6 g.L⁻¹ de agar.



Calentar el medio en el microondas por 10 minutos.



Dispensar 20 ml de medio en los frascos tapar y ajustar.



Autoclavar los frascos dispensados por un tiempo de 40 min a 110°C y trasladar a la cámara de flujo.



2.9. VARIABLES RESPUESTA

2.9.1. Variables respuesta en la fase de establecimiento *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola y Cecilia

Número de hojas.

Los datos de número de hojas se tomaron mediante conteo a los 7, 14 y 21 días del establecimiento en los ensayos de influencia de concentración de agar e influencia de dos medios de cultivo en el establecimiento *in vitro* de papa (Var. Superchola y Cecilia).

Número de nudos.

Se realizó por conteo a los 7, 14 y 21 en los ensayos de influencia de concentración de agar e influencia de dos medios de cultivo en el establecimiento *in vitro* de papa (Var. Superchola y Cecilia).

Altura de la planta (cm).

Los datos de altura de la planta se tomaron por tres semanas (7, 14 y 21 días) para el establecimiento *in vitro* de papa, dando uso de una regla de 30 cm, ubicándolo desde la base de la planta hasta la yema apical.

Porcentaje de contaminación.

Los datos de porcentaje de contaminación se tomaron por tres semanas a los 7, 14 y 21 días.

Porcentaje de viabilidad.

Los datos se evaluaron a los 7, 14 y 21 días.

2.9.2. Variables respuesta en la fase de microtuberización *in vitro* de *S. tuberosum* Var. Superchola y Cecilia

Diámetro de microtubérculos (mm).

Para la medición de esta variable se realizó a los 90 días de siembra, se utilizó un calibrador vernier, para obtener estos resultados se tomó en cuenta el diámetro ecuatorial del microtubérculo y fue expresada en milímetros.

Masa fresca (g).

La masa fresca se obtuvo a los 90 días contados desde el día de la siembra, los microtubérculos se pesaron con una balanza analítica y fue expresada en gramos (g).

Masa seca (g).

La medición de esta variable se obtuvo a partir de la exposición de los microtubérculos a una estufa con una temperatura de 70°C por 48 horas, finalmente se pesó en una balanza analítica su valor final.

Número de microtubérculos por planta.

Se realizó a los 90 días de la siembra de los segmentos nodales, para ello se hizo un conteo por planta.

Días a la formación de microtubérculos (días).

La recolección de esta variable se realizó por conteo a partir de que se cumplieran 30, 60 y 90 días de la siembra.

Número de yemas.

Para determinar esta variable se realizó por observación y conteo de cada uno de los microtubérculos.

Longitud del microtubérculo (mm).

La medición de esta variable se realizó a los 90 días de siembra, se utilizó un calibrador vernier que expresaba la medición en mm.

2.10. Procesamiento de la información

Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Se analizaron los criterios de distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para las variables cuyos datos no cumplieron los requerimientos de normalidad y homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completado con una prueba de U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinar la influencia de medios de cultivo en la producción de microtubérculos.

3.1.1. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var. Cecilia.

En la evaluación correspondiente a los 7 días de la influencia de la concentración de agar sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Solanum tuberosum* L. Var. Cecilia se observó que a excepción del control el resto de los tratamientos incrementaron el número de nudos y número de hojas por planta. Respecto a la altura de la planta cuando se añadieron 6, 7, 8 y 9 g.L⁻¹ de agar al medio MS se incrementó el valor de dicha variable. Sin embargo, no existieron diferencias estadísticas significativas sobre el porcentaje de contaminación.

A los 14 días al usar 6 y 9 g.L⁻¹ de agar se observó un incremento del número de nudos y número de hojas por planta. Asimismo, al añadir 6, 7, 8 y 9 g.L⁻¹ de agar aumentó la altura de las plantas. Sin embargo, no existió influencia del agar sobre el porcentaje de contaminación.

A los 21 días al añadir 6, 8 y 9 g.L⁻¹ de agar se incrementó el número de nudos y número de hojas por planta. Respecto a la altura de la planta la adición de 8 y 9 g.L⁻¹ de agar incrementó el valor para esta variable, en cuanto al porcentaje de contaminación no existió diferencias estadísticas significativas.

En los estudios realizados por Moreno et al. (2001) mencionaron que el agar trabaja positivamente sobre el establecimiento *in vitro* de ápices de *Cymbopogon citratus* (D.C)

Stapf a una concentración de 3 g.L⁻¹. Amlesom et al. (2021) al evaluar la influencia de diferentes agentes gelificantes en la micropropagación *in vitro* de papa var. Kufri Chipsona-3, demostraron que el número máximo de hojas se obtuvo con el agar a una concentración de 7 g.L⁻¹.

En el trabajo realizado por Madege et al. (2015) mencionaron que ciertos agentes gelificantes provenientes de almidón mostraron resultados favorables en el establecimiento *in vitro* de batata dulce var. Ukerewe. Sin embargo, es necesario realizar algunas mejoras para que brinde un mejor crecimiento y desarrollo de los segmentos nodales. De igual manera señalaron que al emplear una concentración de 0,8% (w/v) de agar en el medio de cultivo se obtuvieron mejores resultados para las variedades altura del explante y número de nudos por explante.

Tabla 6

Influencia de diferentes concentraciones de agar sobre el número de nudos, número de hojas, altura de la planta y porcentaje de contaminación en el establecimiento in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 7, 14 y 21 días.

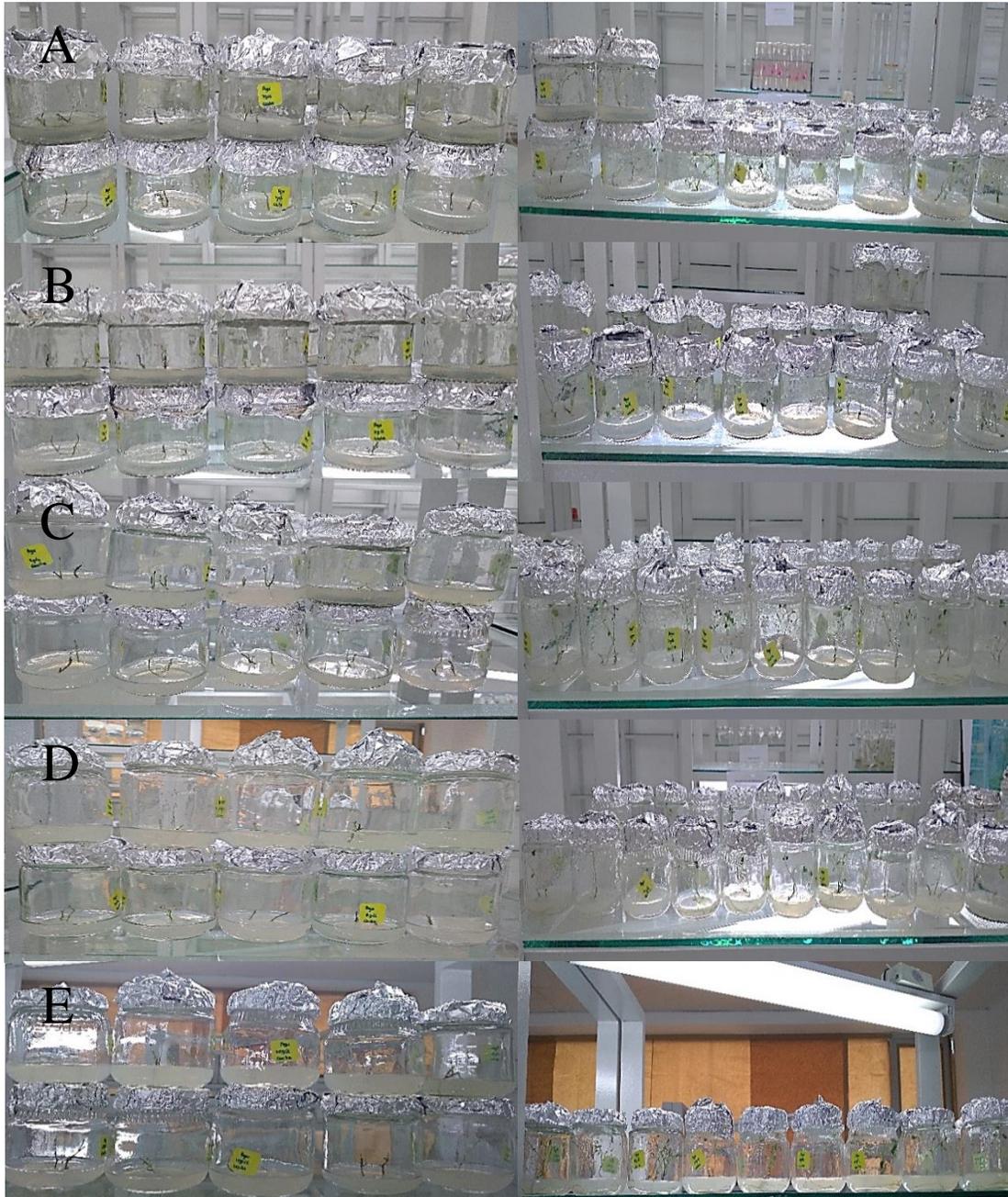
	TRATAMIENTOS	NÚMERO DE NUDOS		NÚMERO DE HOJAS		ALTURA (cm)		PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN	
		\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
7 días	MS + 6 g.L ⁻¹ de agar	2,3	62,40 a	4,3	66,70 a	2,4	64,00 ab	0,0	48,50
	MS + 7 g.L ⁻¹ de agar	2,0	54,20 a	3,6	55,35 a	2,4	68,78 a	0,3	65,00
	MS + 8 g.L ⁻¹ de agar	2,7	64,78 a	4,3	62,73 a	1,7	59,60 ab	0,2	59,50
	MS + 9 g.L ⁻¹ de agar	2,3	61,80 a	3,9	60,20 a	1,9	57,15 ab	0,1	54,00
	MS + 10 g.L ⁻¹ de agar	2,1	55,95 a	3,7	54,70 a	1,8	50,23 b	0,1	54,00
	Sin agar	0,5	12,25 b	1,5	11,15 b	0,8	11,00 c	0,0	48,50
14 días	MS + 6 g.L ⁻¹ de agar	5,6	76,48 a	7,7	77,50 a	4,5	68,45 a	0,0	48,50
	MS + 7 g.L ⁻¹ de agar	4,2	56,08 b	6,2	58,43 b	3,8	62,58 ab	0,3	65,00
	MS + 8 g.L ⁻¹ de agar	4,2	51,20 b	6,1	51,70 b	3,9	52,40 ab	0,2	59,50
	MS + 9 g.L ⁻¹ de agar	4,4	61,33 ab	6,3	60,88 ab	4,4	63,25 ab	0,1	54,00
	MS + 10 g.L ⁻¹ de agar	3,9	48,00 b	5,9	48,95 b	4,05	47,08 b	0,1	54,00
	Sin agar	2,4	24,35 c	3,5	15,60 c	1,4	23,00 c	0,0	48,50

21 días	MS + 6 g.L⁻¹ de agar	8,7	75,45 a	10,6	74,85 a	5,1	34,18 c	0,0	48,50
	MS + 7 g.L⁻¹ de agar	6,1	44,38 c	7,9	43,98 c	5,4	43,98 c	0,3	65,00
	MS + 8 g.L⁻¹ de agar	7,2	58,80 abc	9,1	58,28 abc	4,9	73,43 ab	0,2	59,50
	MS + 9 g.L⁻¹ de agar	7,8	69,58 ab	9,6	70,13 ab	5,4	80,40 a	0,1	54,00
	MS + 10 g.L⁻¹ de agar	6,8	51,58 bc	8,8	53,03 bc	4,9	65,73 b	0,1	54,00
	Sin agar	3,6	10,95 d	4,9	10,00 d	3,03	15,10 d	0,0	48,50

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=20$.

Figura 8

Establecimiento in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de agar a los 14 y 21 días.



Nota: A= 6 g.L⁻¹; B= 7 g.L⁻¹; C= 8 g.L⁻¹; D= 9 g.L⁻¹; E= 10 g.L⁻¹.

3.1.2. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Superchola.

A los 7 días a excepción del uso de 10 g.L⁻¹ de agar y el control sin agar, en el resto de los tratamientos se incrementó número de nudos por planta, número de hojas y la altura de las plantas de *S. tuberosum* L. Var. Superchola. Sin embargo, no existieron diferencias estadísticas significativas en la variable de porcentaje de contaminación.

En la evaluación correspondiente a los 14 días al añadir 6, 7, 8 y 9 g.L⁻¹ de agar al medio MS se incrementó el número de nudos y número de hojas por planta. Respecto a la altura de la planta con excepción del control, el resto de los tratamientos presentaron un incremento en dicha variable, mientras que no se observaron diferencias estadísticas significativas respecto al porcentaje de contaminación.

A los 21 días se observó un incremento del número de nudos y número de hojas por planta cuando se añadieron 6, 7, 8 y 9 g.L⁻¹ de agar. Por otra parte, la mayor altura de la planta se alcanzó con 6 g.L⁻¹ de agar en el medio de cultivo MS. En cuanto al porcentaje de contaminación no existió diferencias estadísticas significativas.

Flores et al. (2017) en su ensayo observaron que, al usar diferentes combinaciones de sustratos entre perlita, fibra de coco y tezontle en sustitución de agentes gelificantes estos actúan con la misma eficiencia que el agar, por tal motivo mencionan que al emplear agar como control a una concentración de 7 g.L⁻¹ no presentó diferencia significativa en la variable número de hojas y número de raíces por explante evaluados a los 45, 90 y 135 días en el cultivo *in vitro* de orquídeas.

Tabla 7

Influencia de diferentes concentraciones de agar sobre el número de nudos, número de hojas, altura de la planta y porcentaje de contaminación en el establecimiento in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.

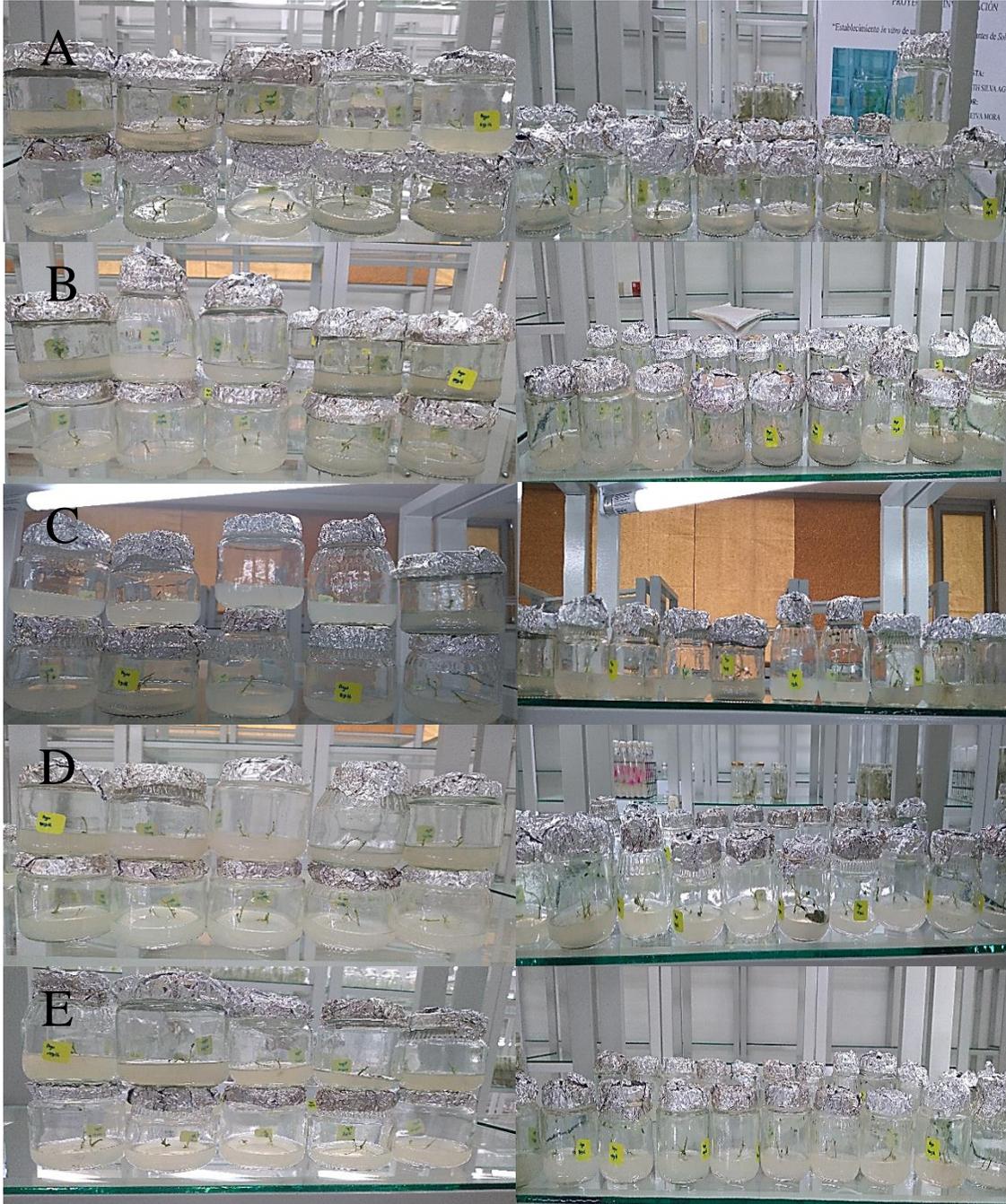
TRATAMIENTOS	NÚMERO DE NUDOS		NÚMERO DE HOJAS		ALTURA (cm)		PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN		
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	
7 días	MS + 6 g.L ⁻¹ de agar	2,2	66,20 ab	3,7	66,05 ab	2,3	70,13 a	0,3	65,00
	MS + 7 g.L ⁻¹ de agar	1,9	60,05 ab	3,1	58,03 ab	1,8	62,30 ab	0,0	48,50
	MS + 8 g.L ⁻¹ de agar	2,3	68,28 a	4,1	70,43 a	1,4	59,33 ab	0,1	54,00
	MS + 9 g.L ⁻¹ de agar	1,5	50,95 ab	2,7	52,68 ab	1,2	51,28 ab	0,1	54,00
	MS + 10 g.L ⁻¹ de agar	1,4	48,00 bc	2,3	47,43 b	1,2	50,40 b	0,1	54,00
	Sin agar	0,3	23,55 c	0,5	21,30 c	0,2	23,65 c	0,2	59,50
14 días	MS + 6 g.L ⁻¹ de agar	3,1	64,90 ab	4,3	61,15 ab	4,3	66,73 a	0,3	65,00
	MS + 7 g.L ⁻¹ de agar	2,6	56,28 ab	4,1	56,70 ab	2,9	58,25 a	0,0	48,50
	MS + 8 g.L ⁻¹ de agar	3,2	67,33 a	5,2	68,95 a	3,1	63,08 a	0,1	54,00
	MS + 9 g.L ⁻¹ de agar	2,5	54,33 abc	3,9	56,08 abc	2,4	52,00 ab	0,1	54,00
	MS + 10 g.L ⁻¹ de agar	2,05	46,83 bc	3,2	47,15 bc	2,4	50,65 ab	0,1	54,00
	Sin agar	1,2	31,20 c	1,9	30,45 c	0,7	29,10 b	0,2	59,50

21 días	MS + 6 g.L⁻¹ de agar	4,9	59,88 ab	6,7	58,93 ab	6,5	60,35 a	0,3	65,00
	MS + 7 g.L⁻¹ de agar	4,6	56,75 ab	6,5	57,10 ab	6,7	62,43 b	0,0	48,50
	MS + 8 g.L⁻¹ de agar	5,7	70,30 a	8,1	74,03 a	8,1	73,10 bc	0,1	54,00
	MS + 9 g.L⁻¹ de agar	4,3	56,85 ab	5,7	55,13 abc	4,8	49,23 bc	0,1	54,00
	MS + 10 g.L⁻¹ de agar	3,6	46,73 bc	5,1	45,70 bc	4,5	46,80 cd	0,1	54,00
	Sin agar	2,5	29,50 c	4,2	28,75 c	1,8	26,70 d	0,2	59,50

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=20$.

Figura 9

Establecimiento in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de agar a los 14 y 21 días.



Nota: A= 6 g.L⁻¹; B= 7 g.L⁻¹; C= 8 g.L⁻¹; D= 9 g.L⁻¹; E= 10 g.L⁻¹.

3.1.3. Influencia de diferentes medios de cultivos MS y MS con vitaminas de Gamborg en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Cecilia.

En la evaluación correspondiente a los 7, 14 y 21 días de la influencia de diferentes medios de cultivos sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Cecilia, se observó un incremento en el número de nudos y número de hojas al usar el medio Murashige y Skoog (MS) y Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg (MSG).

Dogan (2022) evaluaron la influencia de diferentes concentraciones del medio nutritivo de Murashige y Skoog en el cultivo *in vitro* de *Stauroyne repens* (Nees) Kuntze mencionaron que los distintos niveles de este medio afectan considerablemente en el crecimiento y desarrollo de los explantes, donde el medio MS al 100% y 150% incrementaron la longitud del brote y el número de brotes por explante.

Larraburu (2014) en su investigación analizaron la influencia de diferentes medios nutritivos en la germinación *in vitro* de semillas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.), donde mencionó que tanto el medio MSG (Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg) y el medio WPM (Woody PLant Medium) no tuvieron diferencias significativas en la germinación de semillas

Tabla 8

Influencia de diferentes medios de cultivos suplementados con sacarosa y vitaminas de Gamborg sobre el número de nudos y número de hojas en el establecimiento in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 7, 14 y 21 días.

TRATAMIENTOS		NÚMERO DE NUDOS		NÚMERO DE HOJAS	
		\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
7 días	MS	2,1	31,30 a	4,1	31,70 a
	MS+G	1,8	29,70 a	3,8	29,30 a
	CMS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	CMS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
14 días	MS	4,7	30,10 a	6,8	30,35 a
	MS+G	4,7	30,90 a	6,7	30,65 a
	CMS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	CMS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
21 días	MS	9,5	32,85 a	11,9	33,15 a
	MS+G	7,7	28,15 a	9,7	27,85 a
	CMS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	CMS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b

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

Nota: MS= Murashige y Skoog; MSG= Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg.

Figura 10

Establecimiento in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Cecilia con dos diferentes medios de cultivo a los 14 y 21 días.



Nota: A= Murashige y Skoog; B= Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg.

3.1.4. Influencia de diferentes medios de cultivos MS y MS con vitaminas de Gamborg en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Superchola.

En la evaluación a los 7, 14 y 21 días de la influencia de diferentes medios de cultivos en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Superchola, se determinó que el mayor número de nudos por planta y número de hojas por planta se obtuvo al usar el medio MS y MS con vitaminas de Gamborg.

Tabla 9

*Influencia de diferentes medios de cultivos suplementados con sacarosa y vitaminas de Gamborg sobre el número de nudos y número de hojas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Superchola a los 7, 14 y 21 días.*

	TRATAMIENTOS	NÚMERO DE NUDOS		NÚMERO DE HOJAS	
		\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
7 días	MS	1,4	28,40 a	3,3	28,35 a
	MS+G	1,8	32,60 a	3,9	32,65 a
	CMS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	CMS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
14 días	MS	2,8	29,40 a	4,7	29,50 a
	MS+G	3,1	31,60 a	5,0	31,50 a
	CMS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	CMS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
21 días	MS	3,9	30,55 a	5,8	30,70 a
	MS+G	3,8	30,45 a	5,7	30,30 a
	Sin MS	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b
	Sin MS+G	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b

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

Figura 11

Establecimiento in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Superchola con dos diferentes medios de cultivo a los 14 y 21 días.



Nota: A= Murashige y Skoog; B= Murashige y Skoog con vitaminas de Gamborg.

3.1.5. Influencia del nitrato de amonio y nitrato de potasio en la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia.

En la evaluación a los 90 días de la influencia del nitrato de amonio $1,75 \text{ g.L}^{-1}$ y nitrato de Potasio $2,00 \text{ g.L}^{-1}$ en el medio de Murashige y Skoog suplementado con 30 g.L^{-1} de sacarosa para la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum* L. Var. Superchola y Cecilia, se determinó que las modificaciones realizadas al medio MS no actuaron favorablemente en la obtención de microtubérculos.

En los estudios realizados por Tacoronte et al. (2017) mencionaron que al modificar las concentraciones de los nitratos y de sacarosa en el medio basal MS actúa favorablemente en la propagación *in vitro* de segmentos nodales de papa obteniendo buenos resultados en las variables número de hojas por explante, longitud del explante y el número de nudos donde emplearon $1,980 \text{ g.L}^{-1}$ de nitrato de amonio, $2,280 \text{ g.L}^{-1}$ de nitrato de potasio y 20 g.L^{-1} de sacarosa. De igual manera, mencionaron que al incorporar medio basal MS líquido, sacarosa a una concentración de 80 g.L^{-1} y $0,010 \text{ g.L}^{-1}$ de BA en las plantas *in vitro* resultantes, permitieron la formación de microtubérculos.

Coria Gil et al. (2004) en su investigación establecieron una modificación para la inducción de microtubérculos en el cultivo *in vitro* de esquejes en *S. tuberosum* L. utilizando medio de cultivo MS suplementado con 1/10 de la concentración original de la fuente de nitrato, 80 g.L^{-1} de sacarosa y sin concentraciones de GA3. Además, mencionaron que la formación de microtubérculos también se puede dar al emplear bajas concentraciones de sacarosa con niveles controlados de la fuente de nitrato y sin presencia de GA3.

En el trabajo realizado por Sabba et al. (2007) señalaron que la sacarosa se encuentra en grandes concentraciones en la planta de papa y que está estrechamente relacionada con la formación de tubérculos de papa, por la transformación de los carbohidratos en almidones para el relleno de los tubérculos.

3.2. Determinar la influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos.

3.2.1. Influencia de la concentración de sacarosa sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Cecilia.

En la evaluación correspondiente a los 30 días a excepción del control en el resto de los tratamientos aumentaron los días a la formación de microtubérculos. Por otra parte, a los 60 y 90 días se observó que a excepción del uso de 60 g.L⁻¹ y del control sin sacarosa, en el resto de los tratamientos aumentaron los días requeridos para la formación de microtubérculos.

Según Ali et al. (2018) en su ensayo observaron que al incorporar al medio basal MS el doble de concentración de sacarosa sin reguladores de crecimiento y usando segmentos nodales como material vegetal de estudio puede ser beneficioso para la microtuberización de *S. tuberosum*, ya que al evaluar estas condiciones obtuvieron un porcentaje de formación de microtubérculos de 94%, el peso promedio de microtubérculos fue de 1,02 (g), número de microtubérculos promedio 3,69 y los días requeridos para la formación de microtubérculos se vieron reducidos considerablemente a 33 días.

Tabla 10

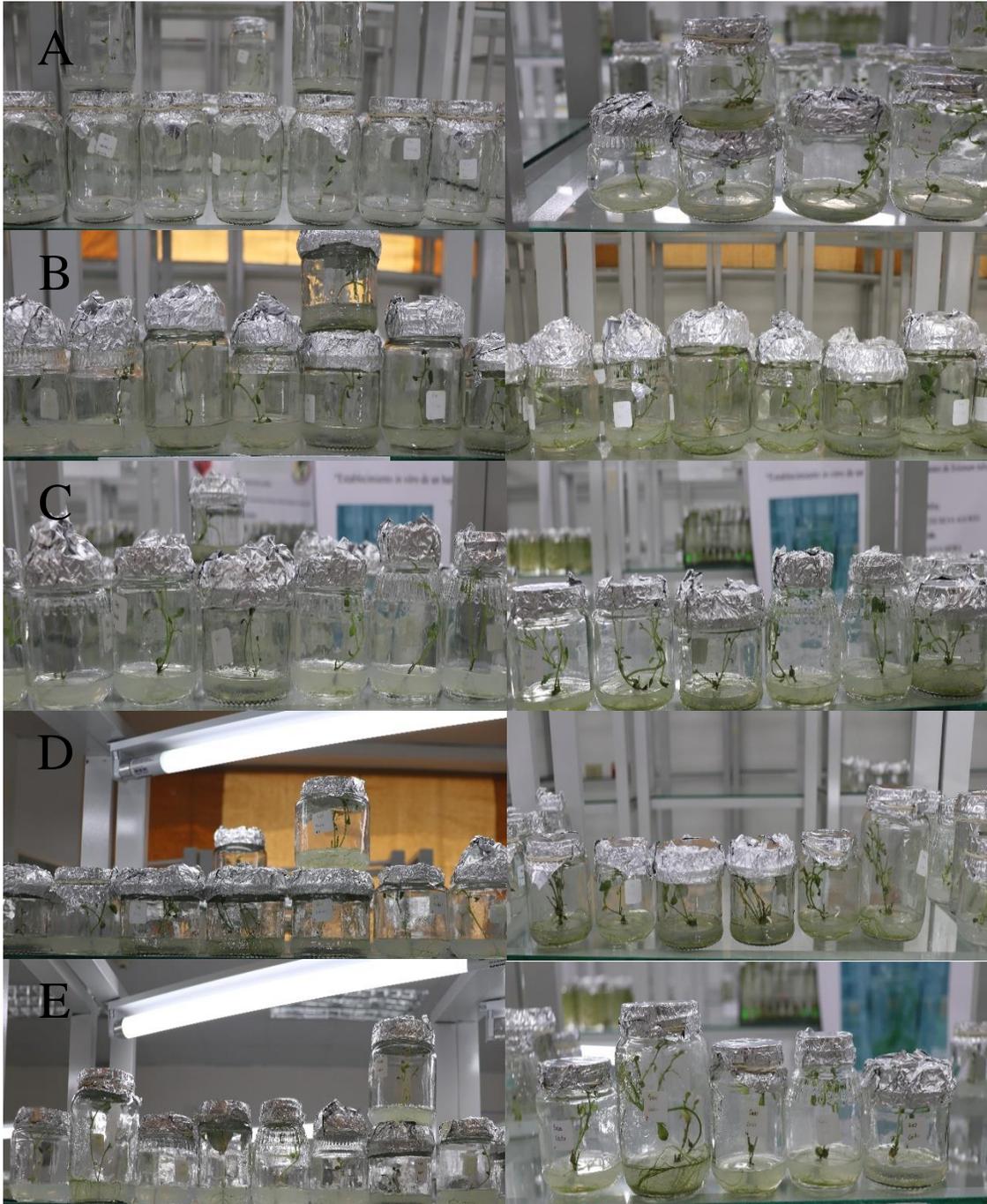
Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 30, 60 y 90 días.

TRATAMIENTOS	DÍAS REQUERIDOS PARA LA FORMACIÓN DE MICROTUBÉRCULOS					
	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 60 g.L ⁻¹ de sacarosa	0,0	23,50 ab	0,0	15,00 b	27,0	19,50 b
MS + 70 g.L ⁻¹ de sacarosa	9,0	32,50 a	42,0	36,00 a	90,0	40,50 a
MS + 80 g.L ⁻¹ de sacarosa	15,0	38,50 a	42,0	36,00 a	81,0	37,50 a
MS + 90 g.L ⁻¹ de sacarosa	12,0	35,50 a	48,0	39,00 a	81,0	37,50 a
MS + 100 g.L ⁻¹ de sacarosa	6,0	29,50 a	54,0	42,00 a	81,0	37,50 a
MS sin sacarosa	0,0	23,50 b	0,0	15,00 b	0,0	10,50 b

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

Figura 12

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de sacarosa a los 60 y 90 días.



Nota: A= 60 g.L⁻¹; B= 70 g.L⁻¹; C= 80 g.L⁻¹; D= 90 g.L⁻¹; E= 100 g.L⁻¹.

3.2.2. Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Cecilia.

En la evaluación a los 90 días de la influencia de las concentraciones de sacarosa sobre la formación de microtubérculos de *S. tuberosum* L. Var. Cecilia se observó que al usar 70, 90 y 100 g.L⁻¹ de sacarosa incrementó el número de microtubérculos por planta. Por otra parte, exceptuando la adición de 60 g.L⁻¹ y el control sin sacarosa, en el resto de los tratamientos aumentó el diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca y número de yemas por microtubérculo. Asimismo, al evaluar la longitud del microtubérculo al añadir 70, 80 y 90 g.L⁻¹ de sacarosa incrementó el valor de dicha variable.

Carmona et al. (2019) en su investigación determinaron que la sacarosa y la consistencia del medio de cultivo son factores importantes para considerar en la formación de microtubérculos, obteniendo mejores resultados en el medio MS líquido con 90 g.L⁻¹ de sacarosa donde evaluaron las variables porcentaje de formación de microtubérculos, número de microtubérculos por explante, masa fresca y el porcentaje de brotaciones de microtubérculo de *Dioscorea rotundata* Por. cv. Botón, asegurando que la presencia de hormonas de crecimiento no es necesaria en la composición de medios de cultivo.

En el trabajo realizado por Aguilar Maradiaga et al. (2016) mencionaron que la adición de concentraciones de entre 80 a 120 g.L⁻¹ de sacarosa al medio MS para la microtuberización de *S. tuberosum* cv. Burren no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos para las variables: peso de microtubérculos (g), diámetro (cm) y longitud del microtubérculo (cm).

Tabla 11

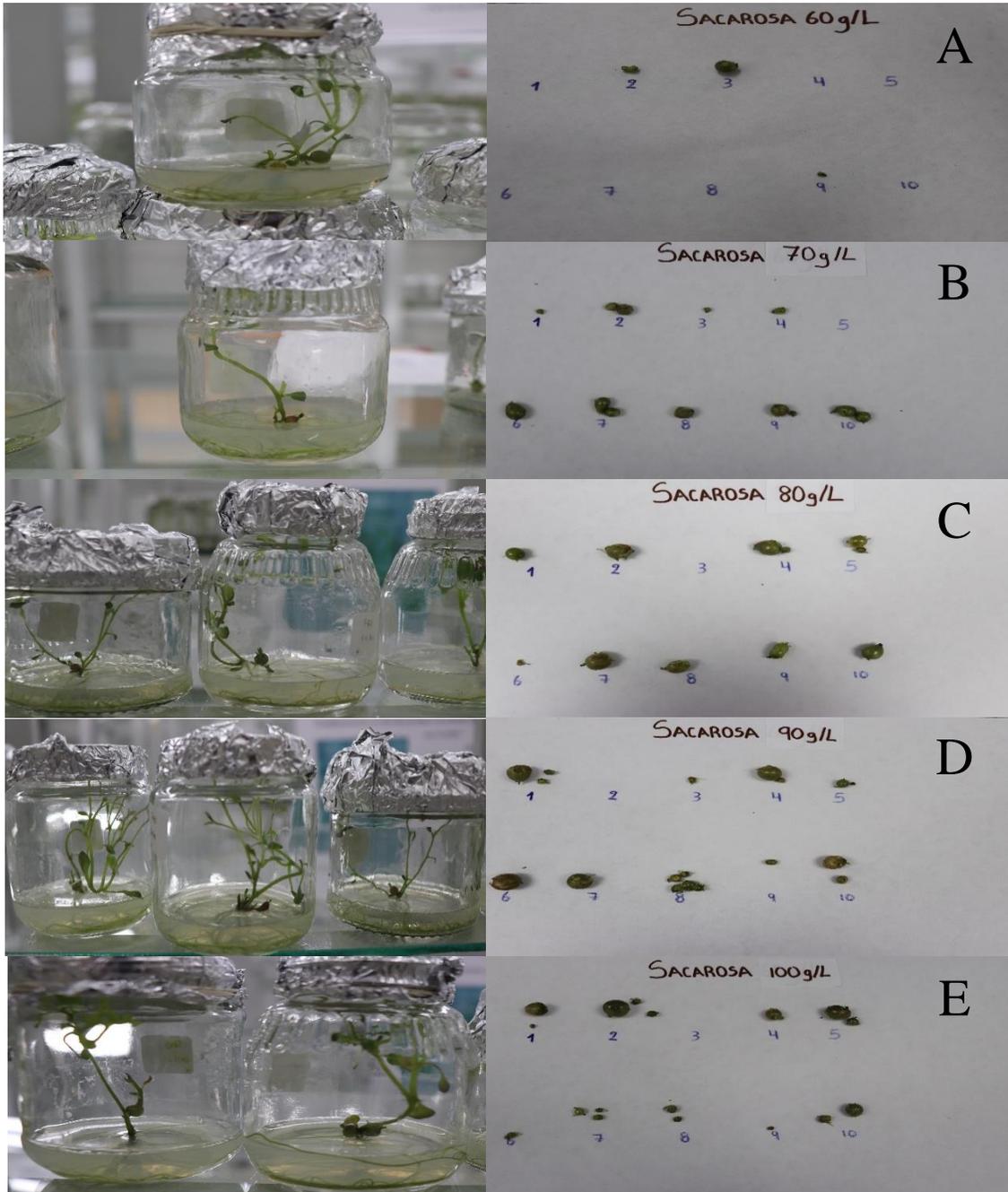
Influencia de diferentes concentraciones de sacarosa sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo, en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 90 días.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS		DIÁMETRO (mm)		MASA FRESCA (g)		MASA SECA (g)		NÚMERO DE YEMAS		LONGITUD (mm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 60 g.L ⁻¹ de sacarosa	0,3	16,65 c	1,1	17,15 b	0,02	16,80 b	0,01	16,35 b	1,3	20,10 bc	1,6	18,35 c
MS + 70 g.L ⁻¹ de sacarosa	1,4	38,20 ab	5,7	42,95 a	0,1	39,30 a	0,03	38,50 a	4,6	42,60 a	6,6	41,30 ab
MS + 80 g.L ⁻¹ de sacarosa	1,1	32,55 b	5,3	39,35 a	0,2	43,60 a	0,04	42,25 a	3,8	37,15 a	7,1	43,15 a
MS + 90 g.L ⁻¹ de sacarosa	1,6	39,85 ab	5,5	39,75 a	0,2	39,40 a	0,05	40,85 a	4,0	39,65 a	6,09	38,85 ab
MS + 100 g.L ⁻¹ de sacarosa	1,9	45,25 a	4,01	33,30 a	0,1	33,40 a	0,02	34,55 a	3,3	33,00 ab	4,2	30,85 b
MS sin sacarosa	0,0	10,50 c	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b	0,0	10,50 b	0,0	10,50 c	0,0	10,50 c

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

Figura 13

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de sacarosa a los 90 días.



Nota: A= 60 g.L⁻¹; B= 70 g.L⁻¹; C= 80 g.L⁻¹; D= 90 g.L⁻¹; E= 100 g.L⁻¹.

3.2.3. Influencia de la concentración de sacarosa en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Superchola.

En la evaluación a los 90 días de la influencia de diferentes concentraciones de sacarosa en el medio MS, se determinó que no influyeron sobre la formación de microtubérculos de *S. tuberosum* var. Superchola.

Altindal y Karadoğan. (2010) aseguraron que para inducir a la microtuberización *in vitro* de esquejes nodales es importante conocer al cultivo con el que se va a trabajar debido a que no todas las especies vegetales actúan de la misma manera a los distintos carbohidratos y a sus diferentes concentraciones, esto lo demostraron en su investigación donde utilizaron dos cultivares de papa Agria y Justine, además emplearon dos fuentes de carbono (sacarosa y maltosa) con distintas concentraciones, obteniendo mejores resultados para el cultivar Agria al usar 60 g.L⁻¹ de sacarosa y para el cultivar Justine 40 g.L⁻¹ de maltosa, por otra parte cuando emplearon una concentración de 20 g.L⁻¹ de sacarosa y maltosa en los dos cultivares no se observaron la formación de microtubérculos, mientras que al usar concentraciones muy altas de maltosa actuaron negativamente en el tamaño de los microtubérculos.

3.3. Evaluación del efecto de la iluminación en la producción de microtubérculos.

3.3.1. Influencia de las diferentes condiciones de iluminación en la producción de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Superchola y Cecilia.

En la evaluación a los 90 días de la influencia de luz blanca fluorescente continua, oscuridad total continua y 48 h luz natural + 48 h oscuridad sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Superchola y Cecilia, se determinó que las condiciones de iluminación empleadas no influyeron en la formación de microtubérculos.

En el trabajo realizado por Ali et al. (2018) señalaron que los explantes de *S. tuberosum* expuestos a condiciones de oscuridad total mostraron los mejores resultados para las variables número de microtubérculos, peso promedio de microtubérculos y días requeridos para la formación de microtubérculos, también del microtubérculo en comparación con los segmentos nodales mantenidos en condiciones de luz total, también cabe mencionar que las condiciones de iluminación actuaron en la variable de color del microtubérculo donde la luz total produjo microtubérculos de color verde y la oscuridad total microtubérculos marrones.

Por otra parte Al-Hussaini et al. (2015) realizaron pruebas en esquejes nodales de *S. tuberosum* en dos variedades donde probaron dos concentraciones de sacarosa y distintas disposiciones de iluminación antes de ser expuestas en oscuridad total hasta la recolección de los microtubérculos (90 días), teniendo mejores resultados al usar 80 g.L⁻¹ de sacarosa con 10 días de luz en la variedad Reverra, mientras que para la variedad Arvona observaron que trabaja mejor con 60 g.L⁻¹ de sacarosa con 10 días de luz en las variables porcentaje de tuberización, número de microtubérculos, diámetro de microtubérculos y peso fresco. Mientras que, Chen et al. (2018) señalaron que al usar diferente combinación de luz LED puede actuar en beneficio de la formación de microtubérculos, obteniendo mejores resultados al emplear luz roja y azul en porcentajes de 75% y 25% respectivamente mejorando el rendimiento y número de microtubérculos.

3.4. Determinación del efecto de fitohormonas vegetales en la producción de microtubérculos.

3.4.1. Influencia del tipo de auxina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum*. L Var. Superchola y Cecilia.

En la evaluación a los 90 días del uso de diferentes tipos de auxinas (ANA, AIA y AIB) en el cultivo *in vitro* de segmentos nodales para la formación de microtubérculos en el cultivo *S. tuberosum* var. Superchola y Cecilia para la forma, se determinó que no actuaron en la formación de microtubérculos.

Según Zhang et al. (2005) en su ensayo observaron que la combinación de distintos reguladores de crecimiento puede ser beneficioso en la producción de microtubérculos de *S. tuberosum*, obteniendo mejores resultados en el tratamiento tres (T3) AIA con concentraciones entre 2,5 a 10 mg.L⁻¹ y 5 mg.L⁻¹ de 6-BAP y en el tratamiento cuatro (T4) AIA con concentraciones entre 2,5 a 10 mg.L⁻¹; 0,5 de GA₃ y 5 mg.L⁻¹ de 6-BAP al evaluar el peso fresco y diámetro de los microtubérculos, además los resultados mostraron que al trabajar solo con AIA sin otros reguladores de crecimiento no provocó la formación de microtubérculos.

Chen et al. (2007) en su investigación analizaron la combinación de dos reguladores de crecimiento en diferentes concentraciones para formación de microtubérculos en *Dioscorea nipponica* Makino, obteniendo mejores resultados al usar 1,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP y 2,0 mg.L⁻¹ de ANA en las variables porcentaje de brotes por microtubérculo y masa fresca. Así mismo los resultados mostraron que a medida que las concentraciones de ANA aumenta se puede generar microtubérculos y mientras las concentraciones son bajas la probabilidad de generar microtubérculos sigue bajando.

3.4.2. Influencia del tipo de citoquinina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum*. L Var. Cecilia.

3.4.2.1. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Cecilia.

En la evaluación correspondiente a los 30 días de la influencia de la concentración de 6-BAP sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos. Por otra parte, a los 60 días se observó que al añadir 0,6 y 0,8 mg.L⁻¹ de 6-BAP al medio se incrementaron el número de días requeridos para la formación de microtubérculos. Por último, a los 90 días al utilizar 0,6; 0,8 y 1,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP se incrementó los días requeridos para la formación de microtubérculos.

En el trabajo realizado por Aslam y Iqbal. (2010) mencionaron los resultados obtenidos depende mucho de los genotipos que se usaron como material vegetal de estudio, partiendo de esto determinaron que al usar 5,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP y 80 g.L⁻¹ de sacarosa en el medio MS se pudo reducir los días requeridos para la formación de microtubérculos a 10 días en el cv. Diamant, por el contrario, al usar las mismas concentraciones para el cv. Red Norland los días de inducción de microtubérculos aumento a 29.

Tabla 12

Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 30, 60 y 90 días.

TRATAMIENTOS	DÍAS REQUERIDOS PARA LA FORMACIÓN DE MICROTUBÉRCULOS					
	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.6 mg.L ⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	45,0	36,50 a	67,5	33,50 a
MS + 0.8 mg.L ⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	45,0	36,50 a	78,7	36,50 a
MS + 1.0 mg.L ⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	18,50 b	56,2	30,50 a
MS + 1.2 mg.L ⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	18,50 b	0,0	15,50 b
MS + 1.4 mg.L ⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	18,50 b	0,0	15,50 b
Sin 6-BAP	0,0	24,50	0,0	18,50 b	0,0	15,50 b

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 14

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum Var. Cecilia con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 60 y 90 días.



Nota: A= 0,6 mg.L⁻¹; B= 0,8 mg.L⁻¹; C= 1,0 mg.L⁻¹.

3.4.2.2. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum*. L Var. Cecilia.

En la evaluación a los 90 días de la influencia de la concentración de 6-BAP sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* L. Var. Cecilia, se determinó que al aplicar 0,6; 0,8 y 1,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP se incrementó el número de microtubérculos por planta y el número de yemas por microtubérculo. Por otra parte, al usar 0,8 mg.L⁻¹ de 6-BAP aumentó el diámetro, masa fresca y masa seca de los microtubérculos. Asimismo, al evaluar la longitud del microtubérculo al añadir 0,6 y 0,8 mg.L⁻¹ de 6-BAP se incrementó el valor de dicha variable.

García et al. (2019) en su investigación emplearon dos tipos citoquininas y su combinación para la producción microtubérculos en dos cultivares de papa (Atlántico y Alfa) y determinaron que al trabajar con dos citoquininas en este caso 6-BAP y Kinetina en un mismo medio las variables número de microtubérculos, peso fresco y diámetro de microtubérculos se ven afectados. Por el contrario, al usarlas independientemente trabajan mejor lo cual lo demostraron al usar 6,5 mg.L⁻¹ de 6-BAP incrementó los valores de las variables tratadas.

Tabla 13

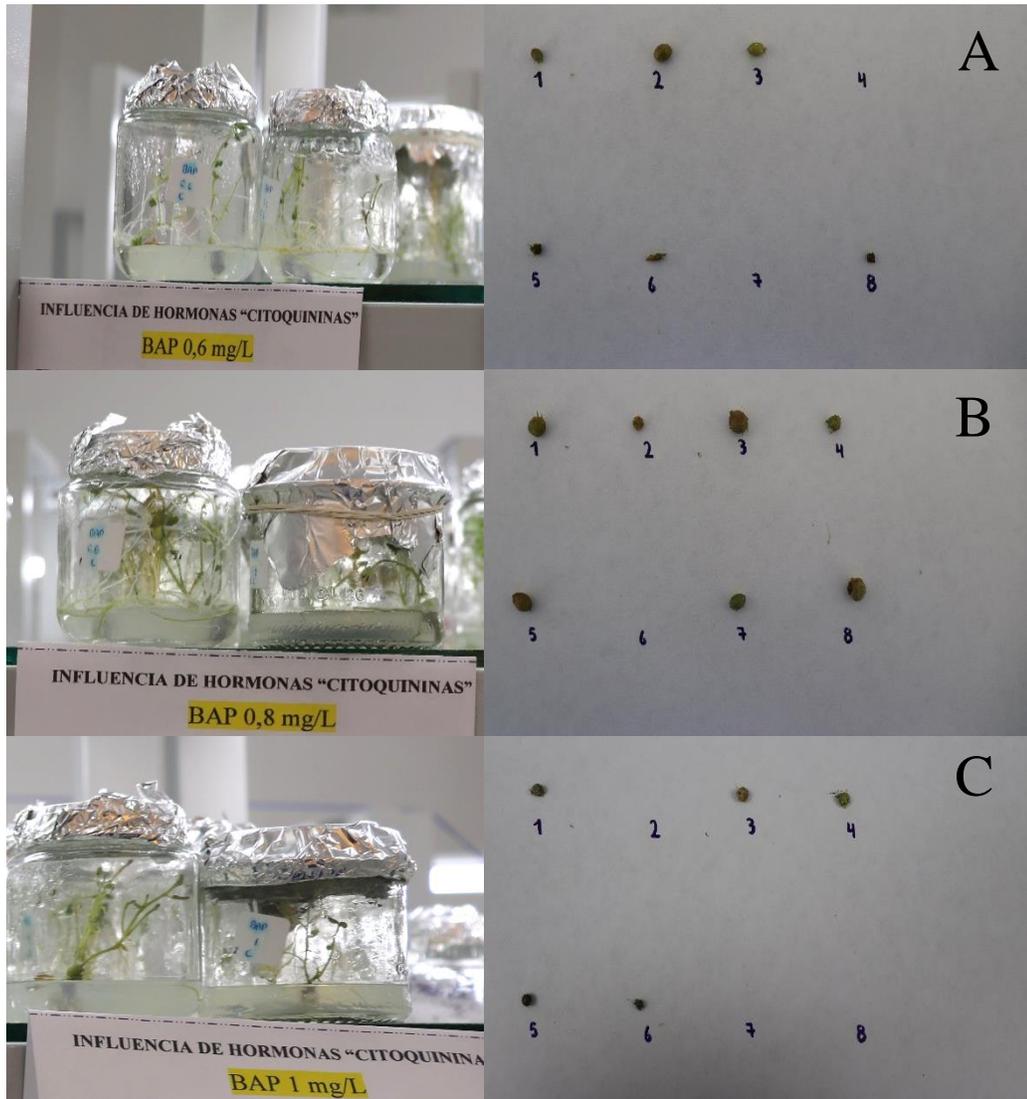
Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Cecilia a los 90 días.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS		DIÁMETRO (mm)		MASA FRESCA (g)		MASA SECA (g)		NÚMERO DE YEMAS		LONGITUD (mm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.6 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,7	33,50 a	2,6	31,00 b	0,03	31,75 b	0,004	31,31 b	1,8	32,00 a	3,7	33,13 a
MS + 0.8 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,8	36,50 a	4,8	40,94 a	0,1	40,44 a	0,01	40,44 a	2,8	39,19 a	5,5	39,44 a
MS + 1.0 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,6	30,50 a	2,2	28,56 b	0,02	28,31 b	0,003	28,75 b	1,5	29,31 a	2,3	27,94 b
MS + 1.2 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c
MS + 1.4 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c
Sin 6-BAP	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 c	0,0	15,50 b	0,0	15,50 c

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 15

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Cecilia con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 90 días.



Nota: A= 0,6 mg.L⁻¹; B= 0,8 mg.L⁻¹; C= 1,0 mg.L⁻¹.

3.4.3. Influencia del tipo de citoquinina sobre la producción de microtubérculos *in vitro* de *S. tuberosum*. L Var. Superchola.

3.4.3.1. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum*. L Var. Superchola.

En la evaluación correspondiente a los 30 días de la influencia de la concentración de 6-BAP sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, se determinó que no existieron diferidas estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos. Por otra parte, a los 60 y 90 días se observó que al añadir $0,6 \text{ mg.L}^{-1}$ y $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$ de 6-BAP al medio se incrementó el número de días requeridos para la formación de microtubérculos.

Kumlay et al. (2014) observaron que la combinación de reguladores de crecimiento pueden o no beneficiar en la formación de microtubérculos, además señalaron que la forma de actuar de los reguladores va a depender del genotipo con la que se trabajó, donde la combinación entre 2 mg.L^{-1} de 6-BAP+ 10 mg.L^{-1} de AIB, expuestos a oscuridad total necesitó menos días para la formación de microtubérculos en el cv. Pasinler con 32,2 días

Tabla 14

Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Superchola a los 30, 60 y 90 días.

TRATAMIENTOS	DÍAS REQUERIDOS PARA LA FORMACIÓN DE MICROTUBÉRCULOS					
	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.6 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	45,0	37,50 a	78,7	39,00 a
MS + 0.8 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	30,0	31,50 ab	67,5	36,00 a
MS + 1.0 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	19,50 b	0,0	18,00 b
MS + 1.2 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	19,50 b	0,0	18,00 b
MS + 1.4 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	24,50	0,0	19,50 b	0,0	18,00 b
Sin 6-BAP	0,0	24,50	0,0	19,50 b	0,0	18,00 b

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 16

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 60 y 90 días.



Nota: A= 0,6 mg.L⁻¹; B= 0,8 mg.L⁻¹.

3.4.3.2. Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum*. L Var. Superchola.

En la evaluación a los 90 días de la influencia de la concentración de 6-BAP sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum*. L Var. Superchola, se determinó que al añadir 0,6 y 0,8 mg.L⁻¹ de 6-BAP se incrementó el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo.

Koleva et al. (2012) manifestaron que la sacarosa actúa directamente en la formación de microtubérculos ya que al aumentar el porcentaje de sacarosa aumentará la presencia de microtubérculos, para ello evaluaron en el medio MS diferentes concentraciones de sacarosa y hormonas de crecimiento, donde obtuvieron mejores resultados al emplear 2,0 mg. L⁻¹ de 6-BAP y 1,0 mg. L⁻¹ de ANA en las variables número de microtubérculos por explante y porcentaje de formación de microtubérculos. Por otra parte Imani et al. (2010) en sus estudios utilizaron diferentes concentraciones de sacarosa y 6-BAP, donde alcanzaron buenos resultados al usar 60 g.L⁻¹ de sacarosa y 15 g.L⁻¹ de 6-BAP en las variables tamaño promedio del microtubérculo y al usar 12 g.L⁻¹ de 6-BAP con la misma concentración de sacarosa el tamaño promedio del microtubérculo fue mayor con 0,49 cm.

Tabla 15

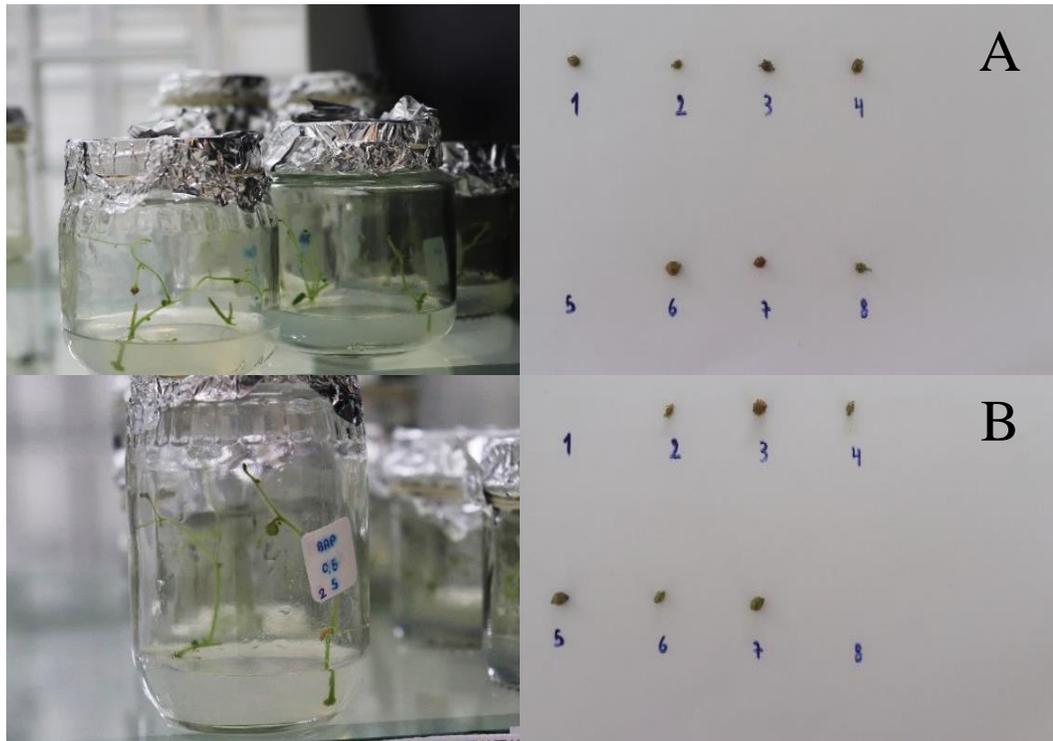
Influencia del 6-bencilaminopurina (6-BAP) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Superchola a los 90 días.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS		DIÁMETRO (mm)		MASA FRESCA (g)		MASA SECA (g)		NÚMERO DE YEMAS		LONGITUD (mm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.6 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,8	39,00 a	3,5	39,25 a	0,05	38,63 a	0,01	38,81 a	3,0	40,00 a	4,7	40,50 a
MS + 0.8 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,7	36,00 a	2,5	35,75 a	0,05	36,38 a	0,01	36,19 a	2,1	35,00 a	4,02	36,50 a
MS + 1.0 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	17,50 b
MS + 1.2 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	17,50 b
MS + 1.4 mg.L⁻¹ 6-BAP	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	17,50 b
Sin 6-BAP	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	18,00 b	0,0	17,50 b

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 17

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum Var. Superchola con diferentes concentraciones de 6-BAP a los 90 días.



Nota: A= 0,6 mg.L⁻¹; B= 0,8 mg.L⁻¹.

3.4.3.3. Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos de papa *S. tuberosum* Var. Superchola.

En la evaluación correspondiente a los 30 días de la influencia de la concentración de TDZ sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos. Por otra parte, a los 60 y 90 días se observó que al añadir 0,06; 0,05 mg.L⁻¹ de TDZ al medio se incrementaron el número de días requeridos para la formación de microtubérculos.

Soliman et al. (2022) en su investigación emplearon diferentes concentraciones de TDZ (8 y 5 mg.L⁻¹) con distintas concentraciones de sacarosa (30, 60 y 80 g.L⁻¹) y determinaron que la adición de 8 mg.L⁻¹ de TDZ+60 g.L⁻¹ de sacarosa en condiciones de iluminación disminuyeron los días requeridos para la formación de microtubérculos a 46 en el cv. Almera por otra parte, al usar 8 mg.L⁻¹ de TDZ+80 g.L⁻¹ de sacarosa en condiciones de oscuridad los días para la formación de microtubérculos fue de 29 en el cv. Diamant.

Tabla 16

Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre los días requeridos para la formación de microtubérculos, en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum L. Var. Superchola a los 30, 60 y 90 días.

TRATAMIENTOS	DÍAS REQUERIDOS PARA LA FORMACIÓN DE MICROTUBÉRCULOS					
	30 DÍAS		60 DÍAS		90 DÍAS	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.06 mg.L ⁻¹ TDZ	0,0	27,00	45,0	39,75 a	67,5	38,63 a
MS + 0.05 mg.L ⁻¹ TDZ	0,0	24,00	30,0	31,25 ab	67,5	36,38 a
MS + 0.1 mg.L ⁻¹ TDZ	0,0	24,00	0,0	19,00 b	0,0	18,00 b
MS + 0.12 mg.L ⁻¹ TDZ	0,0	24,00	0,0	19,00 b	0,0	18,00 b
MS + 0.14 mg.L ⁻¹ TDZ	0,0	24,00	0,0	19,00 b	0,0	18,00 b
Sin TDZ	0,0	24,00	0,0	19,00 b	0,0	18,00 b

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 18

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de Solanum tuberosum L. Var. Superchola con diferentes concentraciones de TDZ a los 60 y 90 días.



Nota: A= 0,05 mg.L⁻¹; B=0,06 mg.L⁻¹.

3.4.3.4. Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum*. L Var. Superchola.

En la evaluación correspondiente a los 90 días de la influencia de la concentración de TDZ sobre la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum*. L Var. Superchola, se determinó que al usar 0,6 mg.L⁻¹ y 0.8 mg.L⁻¹ de TDZ se incrementó el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo.

Yagiz et al. (2020) en su investigación evaluaron diferentes reguladores de crecimiento con distintas concentraciones, donde determinaron que el Thidiazuron sin la combinación de otro regulador actúa positivamente como inductor para la formación de microtubérculos, obteniendo que el tratamiento con 0,1 mg.L⁻¹ de TDZ al medio MS con una concentración de sacarosa al 8% incrementó el número de microtubérculos por planta del cv. Hermes.

Por otra parte, en los estudios realizados por Soliman et al. (2022) mencionaron que al combinar ciertos reguladores de crecimiento (6-BAP y TDZ) favorecieron la formación de microtubérculos, señalando que al combinar 6 mg.L⁻¹ de 6-BAP+ 1 mg.L⁻¹ de TDZ se incrementó el peso fresco, diámetro y número de microtubérculos para el cultivo *in vitro* de *S. tuberosum* cv. Spunta.

Tabla 17

Influencia del Thidiazuron (TDZ) sobre el número de microtubérculos por planta, diámetro de microtubérculos, masa fresca, masa seca, número de yemas del microtubérculo y longitud del microtubérculo en la microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum var. Superchola a los 90 días.

TRATAMIENTOS	NÚMERO DE MICROTUBÉRCULOS		DIÁMETRO (mm)		MASA FRESCA (g)		MASA SECA (g)		NÚMERO DE YEMAS		LONGITUD (mm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
MS + 0.06 mg.L⁻¹TDZ	0,7	36,50 a	2,8	37,00 a	0,05	37,50 a	0,007	37,63 a	2,8	37,19 a	5,04	36,75 a
MS + 0.05 mg.L⁻¹TDZ	0,7	36,50 a	2,5	36,00 a	0,03	35,50 a	0,004	35,38 a	2,5	35,81 a	4,3	36,25 a
MS + 0.1 mg.L⁻¹TDZ	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b
MS + 0.12 mg.L⁻¹TDZ	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b
MS + 0.14 mg.L⁻¹TDZ	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b
Sin TDZ	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b	0,0	18,50 b

Nota: Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=8$.

Figura 19

Microtuberización in vitro de segmentos nodales de S. tuberosum Var. Superchola con diferentes concentraciones de TDZ a los 90 días.



Nota: A= 0,05 mg.L⁻¹; B=0,06 mg.L⁻¹.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. Al utilizar el medio de cultivo MS y MSG no se observaron diferencias en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Superchola y Cecilia.
2. Al añadir 6 g.L⁻¹ de agar no influyó en el número de nudos, número de hojas y porcentaje de contaminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* var. Cecilia. Por otra parte, en la variedad Superchola se observó que al utilizar 6 g.L⁻¹ de agar hubo diferencia significativa en las variables número de nudos y número de hojas.
3. Al usar nitrato de amonio y nitrato de potasio en el medio MS no se formaron microtubérculos a partir de segmentos nodales *S. tuberosum* var. Superchola y Cecilia.
4. Al añadir 70 g.L⁻¹ de sacarosa se incrementó el diámetro del microtubérculo y el número de yemas, mientras que al añadir 80 g.L⁻¹ aumentó la masa fresca, masa seca y longitud del microtubérculo en la variedad Cecilia. Sin embargo, en la variedad Superchola no se observó la presencia de microtubérculos en las diferentes concentraciones de sacarosa utilizadas.
5. Las condiciones de iluminación evaluadas no influyeron en la formación de microtubérculos en ninguna de las variedades evaluadas.
6. El tipo de auxina y sus concentraciones no influyeron en la formación de microtubérculos en ninguna de las variedades evaluadas.
7. Al usar 0,6 mg.L⁻¹ y 0,8 mg.L⁻¹ de 6-BAP en la formación de microtubérculos de papa var Superchola y Cecilia respectivamente se incrementó el número de microtubérculos, diámetro, masa fresca, masa seca, número de yemas y longitud de los microtubérculos.

8. El TDZ con algunas concentraciones indujeron la formación de microtubérculos en la variedad Superchola, mientras que, en la variedad Cecilia no hubo presencia de estos. Del mismo modo al implementar 2iP al medio MS no se formaron microtubérculos para las dos variedades ensayadas.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Determinar si la combinación de auxinas y citoquininas en el medio MS influyen en la microtuberización *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* (Var. Cecilia y Superchola).
2. Utilizar bajas concentraciones de TDZ para inducir a la formación de microtubérculos de *S. tuberosum* (Var. Superchola).
3. Aumentar la concentración de sacarosa a 70 g.L^{-1} u 80 g.L^{-1} para los ensayos de influencia de la fuente de nitrato, influencia de fitohormonas e influencia de la iluminación en la formación de microtubérculos *S. tuberosum* (Var. Cecilia y Superchola).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Maradiaga, M. D, Cruz Cardona, R. Y, Ortiz, Z. M. I, y Zeledón Rodríguez, J. (2016). Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar burren, en biorreactores económicos de inmersión temporal - Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria. La Calera. <https://repositorio.una.edu.ni/3981/>
- Al-Hussaini, Z, Yousif, S, y Al-Ajeely, S. (2015). The role of sucrose and light duration on *in vitro* tuberization for two cultivar of Potato *Solanum tuberosum* L. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(2), 277–283. <http://www.ijcmas.com>
- Ali, S, Khan, N, Nouroz, F, Erum, S, y Nasim, W. (2018). Effects of sucrose and growth regulators on the microtuberization of cip potato (*Solanum tuberosum*) germplasm. *Pak. J. Bot*, 50(2), 763–768. <https://pakbs.org/pjbot/papers/1518736954.pdf>
- Al-Shareefi, M. J, Ahmed Abbass, J, y Abd Ali Abdulhussein, M. (2020). Effect of light sources and culture systems on microtubers production of potato (*Solanum tuberosum* L.) *In vitro*. Article in *International Journal of Agricultural and Statistics Sciences*. www.connectjournals.com/ijass
- Altindal, D, y Karadoğan, T. (2010). The effect of carbon sources on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15(1), 7–11.
- Amlesom, W, Mehari, T, y Saleh, B. (2021). Evaluation of Different Starches as Gelling Agents for Micropropagation of Potato. *Journal of Agricultural Science*, 13(5), 144–152. <https://doi.org/10.5539/jas.v13n5p144>
- Araque Barrera, E. J, María de los Angeles, B. Q, José Estiben, P. D, Correa Mora, L. Y, Urquijo Ruiz, J. S, Castañeda Garzón, S. L, y Pacheco Maldonado, J. C. (2018). Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. *Ciencia En Desarrollo*, 9(1), 21–31.

- Aslam, A, y Iqbal, J. (2010). Combined effect of cytokinin and sucrose on *in vitro* tuberization parameters of two cultivar i.e, Diamant and Red Norland of potato (*Solanum tuberosum*). *Pak. J. Bot*, 42(2), 1093–1102.
- Basantes, T, Aragón, J, Albuja, L, & Vázquez, L. (2020). Diagnóstico de la situación actual de la producción y comercialización de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en la Zona 1 del Ecuador. *E-Agronegocios*. <https://181.193.125.13/index.php/eagronegocios/article/view/5103/5286>
- Bohorquez, C, Alvarez, J, y Niño, R. (2011). Giberelinas y 6-Bencilaminopurina en la plantulación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) híbrido Adrale RZ F1. *Temas Agrarios*, 16(2), 42–53. <https://doi.org/10.21897/RTA.V16I2.690>
- Bridgen, M. P, van Houtven, W, y Eeckhaut, T. (2018). Plant Tissue Culture Techniques for Breeding In: Van Huylenbroeck, J. (eds) Ornamental Crops. *Handbook of Plant Breeding*. 11, 127–144. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_6/COVER
- Carmona, O, Díaz, L, Polanco, H, Durango, E, Beltrán, J, y Suárez, I. (2019). Efecto de la sacarosa y matriz de cultivo sobre el proceso de microtuberización en *Dioscorea rotundata* cultivar Botón. *Corporación Universitaria Del Caribe-CECAR*, 57–72. <https://doi.org/10.21892/9789585547063.4>
- Castro, J. I, Agramonte, D, Alvarado-Capó, Y, Fera, M. de, y Pugh, T. (2012). Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. *Biotecnología Vegetal*, 12(1). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/495>
- Chen, F, Fu, Y, Wang, D.-L, Gao, X, y Wang, L. (2007). The Effect of Plant Growth Regulators and Sucrose on the Micropropagation and Microtuberization of *Dioscorea nipponica* Makino. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26, 38–45. <https://doi.org/10.1007/s00344-005-0147-2>
- Chen, L, Xue, X, Yang, Y, Chen, F, Zhao, J, Wang, X, Tariful, A, y Hu, Y. (2018). Effects of red and blue LEDs on *in vitro* growth and microtuberization of potato

- single-node cuttings. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 5(2), 197–205. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2018224>
- Coria Gil, N. A, Pacheco, A. P, Ramírez, J. I. S, Cantú Silva, I, González Rodríguez, H, y Gómez Meza, M. v. (2004). Regeneración de la planta de papa (*Solanum tuberosum* l.) *In vitro* a partir del estolón. *CIENCIA UANL*, 7(3), 361–370.
- Cossio, L. (2013). Reguladores de crecimiento. *Fisiología Vegetal*, 2–4.
- Dhital, S, & Lim, H. (2012). Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) as Influenced by Supplementary Nutrients, Plant Growth Regulators, and *In vitro* Culture Conditions. *Potato Research*, 55, 97–108. <https://doi.org/10.1007/s11540-012-9212-y>
- Dogan, M. (2022). “Influence of Different Concentrations of Murashige and Skoog Medium on Multiple Shoot Regeneration of *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze” Influence of different concentrations of murashige and skoog medium on multiple shoot regeneration of *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze. *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, 7(1), 61–67. <https://doi.org/10.30931/jetas.1055833>
- Flores, L. A, Robledo, A, y Jimarez, M. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(6), 1315–1328.
- García, J. A, Azofeifa, J. B, Solano, F, y Orozco, R. (2019). Efecto de dos citoquininas y un inhibidor del crecimiento en la tuberización *in vitro* de dos genotipos de *Solanum tuberosum* L. cvs. Atlántico y Alfa. *UNICIENCIA*, 33(2), 1–12. <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/20857/UNICIENCIA%20VOL.%2033%2c%20N%2b02%2c%20PP.%201-12%2c%20JULIO-DICIEMBRE%2c%202019.%20jOSE%20ANTONIO%20GARCIA%20GARCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ghorbani, T, Kahrizi, D, Saeidi, L, y Arji, I. (2017). Effect of sucrose concentrations on *Stevia rebaudiana* Bertoni tissue culture and gene expression. *Cellular and*

Molecular Biology, 63(8), 33–37.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2017.63.8.8>

Gordo, D, Gonzalez, O, y Pacheco, J. (2012). Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al agar en medios de cultivo para propagación *in vitro*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 49–62.
<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/972/955>

Graziano, J. (2011). Producir papa con semilla sexual. *Presencia*, 22(56), 10–14.
<https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-papasemilla.pdf>

Hossain, M. S, Hossain, M. M, Haque, M. M, Haque, M. M, y Dulal Sarkar, M. (2017). Varietal Evaluation of Potato Microtuber and Plantlet in Seed Tuber Production.
<https://doi.org/10.1155/2017/7520297>

Imani, A, Qhrmanzadeh, R, Azimi, J, y Janpoor, J. (2010). The effect of various concentrations 6-benzyl aminopurine (BAP) and sucrose on *in vitro* potato (*Solanum tuberosum*) microtuber induction. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*.
https://www.researchgate.net/publication/285918619_The_effect_of_various_concentrations_6-benzyl_aminopurine_BAP_and_sucrose_on_in_vitro_potato_Solanum_tuberosum_microtuber_induction

Jordán, M, y Casaretto, J. (2006). Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. In *Squeo, F, A y Cardemil, (L)*. eds (Vol. 15). F.A. Squeo & L. Cardemil, eds.

Koleva, L, Mitrev, S, Trajkova, F, & Ilievski, M. (2012). Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L. *Electronic Journal of Biology*, 8(3), 45–49.
https://www.researchgate.net/publication/232237706_Micropropagation_of_Potato_Solanum_tuberosum_L

Kumlay, A. M, Arslan, N, & Kaya, C. (2014). Farklı Fotoperiyot Şartlarında *in vitro* Olarak Yetiştirilen patates (*Solanum tuberosum* L.)’lerde BAP’ın NAA ve IBA

- ile Birlikte Mikro Yumru Oluşturma Üzerine Etkileri The Effects of BAP with NAA and IBA on Microtuberization of *in vitro* Grown Potatoes (*Solanum tuberosum* L.) under Different Photoperiod Conditions. *J. Inst. Sci. & Tech*, 4(1), 73–82.
- Larraburu, E. (2014). Morfogénesis *in vitro* de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) [Universidad Nacional de Lujan]. <https://doi.org/10.1155/2012/318258>
- Ledea, J, Reyes, J, Castellanos, T, Angulo, C, Reynoso, T, y Alcaraz, L. (2020). Evaluación de la germinación, desarrollo y multiplicación *in vitro* de *Moringa oleifera* Lam en diferentes medios de cultivos. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 37, 280–304. <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/2023/1/PUB-ARTICULO-4669.PDF>
- Liljana, K. G, Mitrev, S, Fidanka, T, y Mite, I. (2012). Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum* L. *EJ JB Bi Io o Electronic Journal of Biology*, 8(3).
- López-Escamilla, A. L, López-Herrera, M, y Loaiza-Alanís, C. (2016). Efecto de diferentes agentes gelificantes en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* link et otto (cactaceae). *Polibotánica*, 0(42), 153–166. <https://doi.org/10.18387/POLIBOTANICA.42.8>
- Lourdes, M. de, Lorenzo, J. C, y Mosqueda, O. (2017). Obtención de microtubérculos y minitubérculos como semilla pre-básica en tres cultivares peruanos de papa. *Biotecnología Vegetal*, 17(3), 161–169. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/554>
- Madega, R, Mneney, E, Misangu, R, y Maerere, A. (2015). Characterisation of botanical starches as potential substitutes of agar in tissue culture media. *African Journal of Biotechnology*, 14(8), 702–713. <https://doi.org/10.4314/ajb.v14i8>.

- Mohapatra, P. P, y Batra, V. K. (2017). Tissue Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.): A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 489–495. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2017.604.058>
- Momena, K, Adeeba, R, Mehraj, H, Jamal Uddin, A. F. M, Islam, S, y Rahman, L. (2014). *In vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Cultivar through Sucrose and Growth Regulator. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, 2(2), 76–82. <https://doi.org/10.18801/JBAR.020214.22>
- Morais, T, Abreu, S, Silva, F, Magno, L, y Berildo, M. (2018). Application of tissue culture techniques in potato aplicação da cultura de tecidos vegetais em batata. *Review Article Biosci. J*, 4, 952–969.
- Moreno, M, y Oropeza, M. (2017). Efecto de las hormonas vegetales y el fotoperiodo en la producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 29–38. <https://doi.org/10.15446/REV.COLOMB.BIOTE.V19N2.69499>
- Moreno, R, Moreno, M, Ruffo, K, y Gómez, R. (2001). Influencia de la concentración de agar sobre la multiplicación *in vitro* de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. *Biotecnología Vegetal*, 1(2). <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/64>
- Ordinola, M, y Devaux, A. (2021). Desafíos y oportunidades para el sector papa en la zona andina en el contexto de la COVID-19. *Revista Latinoamericana de La Papa*, 25(1), 101–123. <https://doi.org/10.37066/ralap.v25i1.422>
- Phillips, G. C, y Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3), 242–257. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>
- Racines Jaramillo, M. R, Cuesta Subía, H. X, Rivadeneira Ruales, J. E, y Pantoja, J. L. (2021). Artículos del Noveno Congreso Ecuatoriano de la Papa. Artículos Del Noveno Congreso Ecuatoriano de La Papa, 69–71. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5746>

- Reddy, B, Mandal, R, Chakroborty, M, Hijam, L, y Dutta, P. (2018). A Review on Potato (*Solanum tuberosum* L.) and its Genetic Diversity. *Article in International Journal of Genetics*, 10(2), 360–364. <https://doi.org/10.9735/0975-2862.10.2.360-364>
- Sabba, R. P, Bussan, A. J, Michaelis, B. A, Hughes, R, Drilias, M. J, y Glynn, M. T. (2007). Effect of planting and vine-kill timing on sugars, specific gravity and skin set in processing potato cultivar. *American Journal of Potato Research*, 84(3), 205–215. <https://doi.org/10.1007/BF02986270>
- Sahair, A, Sneha, S, Raghu, N, Gopenath, T, Karthikeyan, M, Gnanasekaran, A, Chandrashekrappa, G, y Basalingappa, K. (2018). *Solanum tuberosum* L: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *International Journal of Phytomedicine*, 10(3), 115–124. <https://doi.org/10.5138/09750185.2256>
- Sauca, E, y Santiago, M. (2009). La patata, ejemplo de reproducción asexual. Fertilidad de La Tierra: *Revista de Agricultura Ecológica*, ISSN 1576-625X, N°. 39, 2009, Págs. 12-14, 39, 12–14. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3166422>
- Soliman, A. M, Abd El-Dayem, H. M, M Mady, M. A, Ibrahim, A. S, y M Eid, R. S. (2022). Effect of Thidiazuron and 6-Benzylaminopurine on *in vitro* microtuberization in potato cv. Spunta. *Annals of Agric. Science, Moshtohor*, 60(3), 799–808. <https://assjm.journals.ekb.eg>
- Tacoronte, M, Vielma, M, Olivo, A, y Chacín, N. (2017). Efectos de nitratos y sacarosa en la propagación *in vitro* de tres variedades de papa nativa. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 63–73. <https://doi.org/10.15446/REV.COLOMB.BIOTE.V19N2.70160>
- Vignola, R, Watler, W, Vargas, A, y Morales, M. (2017). Prácticas efectivas para la reducción de impactos por eventos climáticos en el cultivo de papa en Costa Rica. *CATIE*, 8–10.

- Yagiz, A. K, Yavuz, C, Tarim, C, Demirel, U, y Caliskan, M. E. (2020). Effects of Growth Regulators, Media, and Explant Types on Microtuberization of Potato. *American Journal of Potato Research* 2020 97:5, 97(5), 523–530. <https://doi.org/10.1007/S12230-020-09801-4>
- Zhang, Z, Zhou, W, y Li, H. (2005). The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27(3), 363–369. <https://doi.org/10.1007/S11738-005-0013-7/METRICS>
- Zuñiga, S, morales, C, y Estrada, M. (2017). Cultivo de la papa y sus condiciones climáticas. *Gestión Ingenio y Sociedad*, 2(2), 140–152. <http://gis.unicafam.edu.co/index.php/gis/article/view/60/95>