



Por un desarrollo Agrario
y Integral Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Graduación

Producción de minitubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) de los cultivares Karú y Pampeana producidos en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y su multiplicación por esquejes extraídos de yemas apicales y axilares

Autor:

Ing. Fátima Vanessa Rodríguez Mendoza

Asesor:

MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga

Managua, Nicaragua

Septiembre 2018



Por un desarrollo Agrario
y Integral Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA

Trabajo de Graduación

**Producción de minitubérculos de papa
(*Solanum tuberosum* L.) de los cultivares Karú
y Pampeana producidos en Biorreactores
Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y
su multiplicación por esquejes extraídos de
yemas apicales y axilares**

Autor:

Ing. Fátima Vanessa Rodríguez Mendoza

Asesor:

MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga

**Presentado a la consideración del honorable
tribunal examinador como requisito final para
optar al grado de Maestro en Ciencias en
Mejoramiento Genético con Especialidad
Vegetal**

Managua, Nicaragua

Septiembre 2018

CONTENIDO

Sección	Página
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FOTOS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivo Específicos	4
III. MATERIALES Y MÉTODOS	5
3.1. Localización del experimento	5
3.2. Esterilización de materiales y equipos	5
3.3. Selección de material vegetativo	5
3.3.1. Descripción del cultivar Karú	5
3.3.2. Descripción del cultivar Pampeana	6
3.4. Siembra del material Vegetativo	7
3.5. Fase de multiplicación	7
3.5.1. Medios de cultivo	8
3.6. Fase de microtuberización	8
3.6.1 Multiplicación por microesquejes	8
3.6.2. Inducción de la microtuberización	9
3.6.3. Reproducción por esquejes	11
3.7. Diseño experimental y análisis estadístico	13
3.7.1. Fase de multiplicación	13
3.7.2. Fase de microtuberización	14
3.7.3. Reproducción de esquejes	15

3.7.4. Esquema de producción de minitubérculos de papa de los cultivares Karú y Pampeana producidos en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y su multiplicación por esquejes extraídos de yemas apicales y axilares.	17
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
4.1. Fase de multiplicación por cultivar	18
4.1.1. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en tres expresiones morfológicas por planta del cultivar Karú	18
4.1.2. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en tres expresiones morfológicas por planta del cultivar Pampeana	19
4.2. Fase de microtuberización por cultivar	22
4.2.1. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en la microtuberización del cultivar Karú.	22
4.2.2. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en la microtuberización del cultivar Pampeana.	24
4.3. Reproducción por tipos de yemas apicales y axilares	29
4.3.1. Reproducción por yema en el cultivar Karú	30
4.3.2. Reproducción por yemas en el cultivar Pampeana	30
V. CONCLUSIONES	34
VI. RECOMENDACIONES	35
VII. LITERATURA CITADA	36

DEDICATORIA

Dedico en primera instancia a:

Dios Misericordioso. Fuente de vida que me acompaña e ilumina cada paso que doy; logrando culminar una meta a la vez.

Nuestra Madre Santísima María, Madre de la Misericordia. Por mostrarme todos los días el camino de la bondad, la paciencia y la perseverancia, e intercediendo por mi ante tu hijo Jesús para que jamás me aparte de mis metas y su voluntad.

A mi Madre y mi Padre (**q.e.p.d.**), a mis hermanas, a mi hija e hijo y esposo ya que con el amor, paciencia, tolerancia y la confianza que me brindan han estado acompañándome en todo este caminar hasta culminar este trabajo. Dándome fortaleza para continuar coronando una meta más.

Ing. Fátima Vanessa Rodríguez Mendoza

AGRADECIMIENTO

Al concluir este trabajo de investigación quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que fueron parte de este proceso de formación académica, profesional, técnica y personal durante este período de estudios superiores:

A mi tutor: Profesor MSc. **Marbell Danilo Aguilar Maradiaga**, por sus consejos, observaciones, acompañamiento en todo momento con sus conocimientos y experiencia en esta investigación que han sido claves para lograr con buen término este trabajo que sin lugar a duda contribuirá para formar parte de un plan de producción de semilla de papa en el país.

A las Ingenieras **Roxana Cruz Cardona** y **Harlem Tania Ríos Peralta** por haberme brindado su acompañamiento motivándome y aportando con sus sabias experiencias y conocimientos todo lo necesario para el buen desarrollo durante todas las fases de esta investigación.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Cultivo de Tejido que estuvieron apoyando, durante el proceso de esta investigación.

Al MSc. **Álvaro Benavides** por haberme ayudado y guiado a través de los análisis estadísticos y brindándome sus más claras interpretaciones.

A los profesores de la Universidad Nacional Agraria (**UNA**), por la calidad de su enseñanza y prestigio.

Al Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (**INTA**) quien me dio la oportunidad de progresar intelectualmente para beneficio y servicio de mi País.

Ing. Fátima Vanessa Rodríguez Mendoza

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Variante de medios de cultivos en la fase de multiplicación.	8
2	Variantes de medios de cultivo en la inducción de microtuberización de los cultivares de papa Karú y Pampeana.	10
3	Variantes de la solución hidropónica de los cultivares de papa Karú y Pampeana.	12
4	Efecto del GA ₃ y el BAP en longitud de plantas y el número de hojas por planta del cultivar Karú en la fase de multiplicación en los BEIT a las cuatro semanas.	19
5	Efecto del GA ₃ y el BAP en longitud de plantas y el número de hojas por planta del cultivar Pampeana en la fase de multiplicación en los BEIT a las cuatro semanas.	20
6	Efecto de la sacarosa en la media de peso, diámetro y la longitud de microtubérculos del cultivar Karú	22
7	Efecto de la sacarosa en la media de peso, diámetro y la longitud de microtubérculos del cultivar Pampeana.	25
8	Efecto de dos tipos de yemas extraídas a los 10 días de microtubérculos del cultivar Karú a concentraciones de 0, 0.25, 0.50 0.75 y 1.00 mg/L ⁻¹ de IBA en base a la respuesta de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces.	31
9	Efecto de dos tipos de yemas extraídas a los 10 días de microtubérculos del cultivar Pampeana a concentraciones de 0, 0.25, 0.50 0.75 y 1.00 mg/L ⁻¹ de IBA en base a la respuesta de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces.	32

INDICE DE FOTOS

Foto		Página
1	Izquierda: Tubérculo. Centro: flor. Derecha: plantación en campo de la Cultivar Karú. Tomado de Equipo Mejoramiento de Papa INIA Remehue, Chile.	6
2	Izquierda: Flor y tubérculos de la cultivar Pampeana Derecha: plantación en campo. Tomado de INTA, Nicaragua.2015.	6
3	Plantas formadas a las cuatro semanas en el medio de multiplicación en los BEIT. Donde se extrajeron microesquejes de aproximadamente 1 cm de longitud.	7
4	Plantas de papa formadas a las cuatro semanas en un medio de cultivo de multiplicación en BEIT: Izquierda cultivar Karú. Derecha cultivar Pampeana.	9
5	Plantas de los cultivares Karú y Pampeana en BEIT cubiertos con lámina de aluminio en la fase de microtuberización.	10
6	Izquierda superior; Plántulas de papa provenientes de microtubérculos germinados; Izquierda inferior; tipo de yema axilar, yema apical; Derecha; siembra de esquejes por tipo de yema.	11
7	Plántulas de papa de los cultivares de Karú y Pampeana con 10 días de establecido el ensayo en el cuarto de crecimiento.	13
8	Microtubérculos del cultivar Karú en BEIT a las seis semanas.	25
9	Microtubérculos del cultivar Pampeana en BEIT a las seis semanas.	28
10	Izquierda: plántulas desarrolladas a partir de yema apical. Derecha: Plántulas desarrolladas a partir de yema axilar. De los cultivares Karú y Pampeana.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Promedio de microtubérculos producidos por planta del cultivar Karú a las seis semanas en los cinco tratamientos.	24
2	Promedio de microtubérculos producidos por planta del cultivar Pampeana a las seis semanas en los cinco tratamientos.	29

RESUMEN

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad Nacional Agraria (UNA) y en el Laboratorio de cultivo de tejidos del INTA ubicado en el departamento de Estelí en el Km 151 Carretera Panamericana Norte, durante el período comprendido entre mayo y diciembre del año 2017. Se realizó un estudio mediante la evaluación de la producción de microtubérculos de papa en los cultivares Karú y Pampeana producidos en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y su posterior propagación por esquejes apicales y axilares sembrados en un sustrato orgánico. En el cultivar Karú en la fase de multiplicación por microesquejes en base a las características morfológicas que presentaron las plantas *in vitro*, se determinó que no es necesario agregar ácido giberélico, GA₃ ni N-6 Bencilaminopurina, BAP a las sales Murashige y Skoog (1962) (MS). Mientras que en el cultivar Pampeana el medio de cultivo que resultó mejor fue el que contenía las sales MS en concentraciones de 0.20 mg L⁻¹ GA₃ y 1.00 mg L⁻¹ de BAP. En el cultivar Karú de acuerdo a las mejores respuestas estadísticas de las variables peso, diámetro, longitud y número de microtubérculos por planta, fue mayor el tamaño de los microtubérculos con adiciones de sacarosa entre los 70 y 80 g L⁻¹. En el cultivar Pampeana en esas mismas variables se presentó mejor respuesta estadística en medios de cultivo con similares concentraciones de sacarosa y al que se adicionaron 60 g L⁻¹ de sacarosa. En el cultivar Karú la propagación a partir de la siembra de yemas apicales extraídas de plantas de microtubérculos germinados, resultó mejor para la formación de plantas con la adición al sustrato de 0.75 mg L⁻¹ de Ácido indol-3-butírico, IBA. Pero en la siembra de yemas axilares fue mejor la respuesta estadística en las variables longitud de plantas y longitud de raíces en el sustrato con 0.50 mg L⁻¹ de IBA.

Palabras Claves: *Solanum tuberosum* L., Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal, microtuberización, medio de cultivo.

ABSTRACT

The work was carried out in the tissue culture laboratory of the National Agrarian University (UNA) and in the tissue culture laboratory of the INTA located in the department of Estelí at km 151 Northern Pan-American Highway, during the period between May and December of the year 2017. A study was carried out by evaluating the production of potato microtubers in the Karú and Pampeana cultivars produced in Temporary Immersion Bioreactors (BEIT) and their subsequent propagation by apical and axillary cuttings sown in an organic substrate. In the cultivar Karú in the phase of multiplication by micro-cuttings based on the morphological characteristics presented by the *in vitro* plants, it was determined that it is not necessary to add Gibberellic acid, GA₃ or N-6-Benzylaminopurine, BAP to the Murashige y Skoog (1962) MS salts. While in the Pampeana cultivar the culture medium that was the best was the one that contained the MS salts in concentrations of 0.20 mg L⁻¹ GA₃ and 1.00 mg L⁻¹ of BAP. In the Karu cultivar, according to the best statistical responses of the variables weight, diameter, length and number of microtubers per plant, the size of the microtubers with sucrose additions between 70 and 80 g L⁻¹ was greater. In the Pampeana cultivar, in those same variables, a better statistical response was presented in culture media with similar concentrations of sucrose and to which 60 g L⁻¹ of sucrose was added. In the cultivar Karú the propagation from the sowing of apical buds extracted from germinated microtuber plants, was better for the formation of plants with the addition to the substrate of 0.75 mg L⁻¹ of Indole-3-butyric acid (IBA). But in the axillary bud planting the statistical response was better in the variables plant length and root length in the substrate with 0.50 mg L⁻¹ of IBA.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., Economic Bioreactors of Temporary Immersion, microtuberization, Culture medium.

I. INTRODUCCIÓN

Después del descubrimiento de América, el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) ha sido considerada entre los más importantes en la producción de alimentos (Muñoz, 1996). Según FAO (2008), a nivel mundial la papa ocupa el cuarto lugar de importancia, como un cultivo de alto consumo, con una producción anual de 300 mil toneladas, destacándose Asia y Europa como los principales productores. A nivel regional, América del Norte ha obtenido un buen desempeño en la producción de este cultivo.

En Nicaragua las plagas y enfermedades más recurrentes en el cultivo de papa son la gallina ciega (*Phyllophaga* spp.), gusano alambre (*Aeolus* spp.), psílido de la papa (*Paratrioza cockerelli*), tizón tardío (*Phytophthora infestans*), Rizoctoniasis (*Rhizoctonia solani*), roña de la papa (*Spongospora subterranea*) y el mildiú polvoso (*Erysiphe cichoracearum*) (Molina *et al.*, 2004). La propagación convencional de papa se hace de forma vegetativa mediante tubérculos para asegurar la uniformidad del cultivo en términos de crecimiento y rendimiento, aunque el inconveniente es que se produce la degeneración del cultivo a causa de infecciones virales. La tasa de degeneración varía de un lugar a otro y de una temporada de cultivo a otra. (Nistor *et al.*, 2010). Este tipo de propagación tiene algunas desventajas como la transmisión de enfermedades virales y bacterianas, costos por transportes de tubérculos pesados y voluminosos, y brotes de tubérculos antes de la temporada de la plantación (Oropeza, 2012).

Otros problemas para los productores de papa de Nicaragua son la falta de semilla básica libre de patógenos, así como la variación en el tamaño de los tubérculos, factores que inciden en los bajos rendimientos de la producción y consecuente a esto el alza permanente del precio de la papa (Aguilar y Cruz, 2013). Al importar un volumen considerable de semilla, se somete a los riesgos de introducción de agentes patógenos e insectos que existen inevitablemente en toda importación de grandes volúmenes de materiales de siembra (Pérez y Rodríguez, 1989).

La producción de plantas *in vitro* se ha convertido en las vías más eficientes para la propagación de este cultivo, manteniendo un alto grado de pureza varietal y calidad fitosanitaria (Espinoza *et al.*, 1992). La microtuberización representa la fase transitoria de la multiplicación *in vitro* de un material sano para el cultivo en el campo. La producción de microtubérculos es una vía eficiente para obtener material sano; además reducen el tiempo necesario para producir tubérculo-semilla de 3 a 4 años y por tanto el número de generaciones de campo requeridas. Los microtubérculos son importantes porque pueden producirse en cualquier período del año, son fáciles de transportar y almacenar (Nistor *et al.*, 2010).

La microtuberización es un sistema de desarrollo que abarca una serie de importantes procesos biológicos regulado por la expresión diferencial de genes. La hinchazón de las yemas axilares pueden ser detectadas cinco días después de la inducción y la morfología de los microtubérculos es evidente después de seis días del cultivo (Désiré *et al.*, 1995) y Rosell (1987); citados por Yu *et al.* (2000). El sistema de producción *in vitro* de microtubérculos consiste esencialmente en colocar segmentos nodales de plantas o plantas completas en un medio de cultivo para la inducción de la tuberización caracterizado por un alto contenido de sacarosa y en algunos casos complementados con sustancias reguladoras del crecimiento. Los explantes nodales tuberizan sincrónicamente cuando se cultivan *in vitro*, en condiciones de oscuridad y en un medio de cultivo con contenido de nitrógeno reducido y óptima concentración de sacarosa (Jackson y Prat, 1996).

La obtención de tubérculos *in vitro* mediante cultivos estáticos tiene el problema de la baja producción por planta (1.0 –1.5) y el pequeño tamaño de los mismos que limita la plantación directa en condiciones de campo, problemas que disminuyen con el empleo de técnicas de cultivo más eficientes basadas en la semi-automatización del proceso, que a su vez permiten reducir los costos de producción (Jiménez, 1999).

Con el propósito de mejorar la calidad y el número de los microtubérculos por planta se deben efectuar cambios en algunos componentes del medio de cultivo, la manipulación de las condiciones del cultivo como la temperatura, el fotoperiodo y el uso de medios líquidos en tubos o biorreactores en agitación (Arellano *et al.*, 2010). Los biorreactores de inmersión

temporal permiten nuevas oportunidades para los laboratorios comerciales que se ocupan de la producción de microtubérculos de papa, debido a que éstos pueden ser almacenados y pueden ser plantados directamente en campo sin necesidad de una fase de aclimatación (Igarza *et al.*, 2011).

De acuerdo con Teisson y Alvarad (1997), entre las ventajas de la inmersión temporal de las plántulas se encuentran: evitar la inmersión continúa del material vegetal en el medio de cultivo, proveen una adecuada transferencia de oxígeno, facilitan los cambios secuenciales y automatizados del medio de cultivo, reducen la contaminación microbiana y tiene bajo costo. En el cultivo de papa la técnica de inmersión temporal permite que todas las yemas axilares sean inducidas a formar microtubérculos y que estos a su vez alcancen mayor tamaño (Pérez *et al.*, 2008). El empleo de los Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) desarrollado en el laboratorio de cultivo de tejidos de la UNA para la producción masiva de plantas *in vitro* de diferentes especies, puede contribuir a reducir el tiempo y el costo de transporte de microtubérculos por su bajo peso y volumen, así como en la mejora de la calidad genética y fitosanitaria del cultivo de papa. (Aguilar y Cruz, 2013).

En el presente estudio se propone una alternativa para potenciar la cantidad de plantas de una fuente de semilla de alta calidad genética y fitosanitaria a través de los microtubérculos, garantizando las normas de calidad de un programa de producción de semilla básica, además que su empleo justifique el uso de instalaciones destinadas para la producción de minitubérculos, aunque estas no se localicen cerca de las unidades de producción por cultivo de tejidos. Una alternativa del uso de los microtubérculos es la propagación clonal por microesquejes, proceso que se realiza mediante la extracción de la yema apical y la primera yema axilar de la planta principal brotada del microtubérculo. Posterior a la extracción de las yemas se procede a la siembra en recipientes plásticos que contienen sustrato Kekkila enriquecido con una solución nutritiva más la adición de fitoreguladores como el Ácido Indol-3-Butírico (IBA).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

- Evaluar la producción de microtubérculos de papa en los cultivares Karú y Pampeana producidos en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y su posterior propagación por esquejes apicales y axilares sembrados en un sustrato orgánico.

2.2. Objetivos específicos:

- Definir las mejores variantes de medios de cultivo en base a la respuesta morfológica de las plantas formadas durante la fase de multiplicación en el sistema BEIT.
- Identificar las mejores variantes de medios de cultivos que favorecen la formación de microtubérculos en los cultivares Karú y Pampeana en el sistema BEIT.
- Evaluar como método de propagación asexual la siembra de yemas apicales y axilares extraídas de microtubérculos germinados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del experimento

El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía (FAGRO) perteneciente a la UNA, ubicado en el km 12 ½ carretera Norte, Managua. La investigación se llevó a cabo en el periodo comprendido entre los meses de mayo y diciembre del 2017.

3.2. Esterilización de materiales y equipos

Para el lavado de los BEIT se sumergieron durante 24 horas en una palangana plástica y como desinfectante se utilizó hipoclorito de sodio (NaClO_3) al 1%, posteriormente se eliminaron los residuos de hipoclorito con enjuagues de agua del grifo y se dejaron escurrir durante 30 minutos. Previo a la siembra de los tejidos *in vitro*, los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 120 °C a 1.0 atmósfera de presión por 20 minutos. Los platos petri, pinzas y escalpelos se esterilizaron en el horno a temperaturas de 180 °C durante una hora. Para purificar el aire del área de trabajo de la cámara de flujo laminar se desinfectó con NaClO_3 al 1%, posteriormente fue expuesto a luz ultravioleta durante 30 minutos.

3.3. Selección del material vegetativo

Los diferentes experimentos se realizaron con plantas *in vitro* de los cultivares de papa Karú y Pampeana en fase de multiplicación en el medio de cultivo semi-sólido conteniendo las sales de Murashige y Skoog (1962) (MS) y la adición de 0.2 mg L⁻¹ de ANA y 0.1 mg L⁻¹ de GA₃ y 30 g de sacarosa. Las plantas *in vitro* se sembraron en número de 8 por cada frasco de vidrio transparente con capacidad de 200 ml. Las plantas de los dos cultivares requeridas para el estudio las facilitó el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA) ubicado en el Departamento de Estelí.

3.3.1. Descripción del cultivar Karú

Karu-INIA es un nuevo cultivar de papa (*Solanum tuberosum* L.) obtenido a partir del cruzamiento de Yagana-INIA x Fanfare, realizado en el Programa de Mejoramiento Genético de la Papa del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) localizado en Chile. El cultivar Karú produce un tubérculo de forma oval alargada, piel roja y pulpa amarilla clara.

De madurez semi precoz (135 – 145 días), en plantaciones de octubre en el sur de Chile.

Foto 1 (INIA, 2015).



Foto 1. Izquierda: Tubérculo. Centro: flor. Derecha: plantación en campo de la Cultivar Karú. Tomado de Equipo Mejoramiento de Papa INIA Remehue, Chile.

Es un cultivar de alto rendimiento, con aproximadamente un 22% de materia seca. Extremadamente resistente al virus X de papa (PVX); moderadamente resistente a los virus del enrollamiento de las hojas de papa (PLRV), y al virus Y (PVY); a los hongos causantes de tizón tardío en follaje, pudrición seca y costra negra en los tubérculos; y a la bacteria causante de la pudrición blanda en tubérculos. Moderadamente susceptible a la bacteria causante de sarna común. Tiene buen comportamiento en almacenamiento, con un período de reposo de 5 meses en bodegas con ventilación natural (INIA, 2015).

3.3.2. Descripción del cultivar Pampeana INTA

El cultivar Pampeana INTA obtenida en Argentina (MPI 59.789/12 x Huincul). Se caracteriza porque sus tubérculos son redondos, piel semicasposa, carne blanca, calibre mediano, rendimiento alto, corto período de reposo, alto número de tubérculos medianos a pequeños, buena resistencia a virosis y *Phytophthora infestans*. Calidad culinaria: Muy alta materia seca. Excelente para hervido y puré deshidratado (Foto 2). (argenpapa.com.ar/info/la-papa/).



Foto 2. INTA Región I, Nicaragua. Izquierda: Flor y tubérculos del cultivar Pampeana. Derecha: plantación en campo. Tomado de INTA, 2015.

3.4. Siembra del material vegetativo

Para contar con la cantidad de plantas necesarias en el experimento de multiplicación, se sembraron microesquejes en un medio de cultivo similar descrito en el párrafo 3.3. Finalizado el proceso de siembra, los microesquejes fueron trasladados al cuarto de crecimiento en condiciones de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y luz natural. A 30 días se repitió el proceso de repique de los microesquejes.

3.5. Fase de multiplicación

Se realizó un experimento en BEIT con capacidad de 2000 ml para definir las mejores variantes de medio de cultivo que generen plantas de mayor calidad en cuanto a la expresión de las variables morfológicas (longitud de planta, número de hojas y número de brotes).

Las plantas formadas en el proceso descrito en el acápite 3.4, se seccionaron en microesquejes de aproximadamente 1 cm de longitud y se inoculó un número de 40 de ellos en cada BEIT que contenía 600 ml de medio de cultivo líquido. Posterior a la siembra de los microesquejes en los BEIT fueron llevados al cuarto de crecimiento bajo condiciones ambientales de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas en oscuridad y una intensidad de 2000 lux. Se suministraron dos riegos de inmersión al día, cada uno con duración de tres minutos (Foto 3).



Foto 3. Plantas formadas a las cuatro semanas en el medio de multiplicación en los BEIT. Donde se extrajeron microesquejes de aproximadamente 1 cm de longitud.

3.5.1. Medios de cultivo

Tanto en el experimento de multiplicación como en el de microtuberización se utilizó como medio básico las sales MS (1962) al 100%. En la fase de multiplicación se estudió la respuesta morfológica de los microesquejes por efecto de dos concentraciones de GA₃ y 6-BAP adicionadas a las variantes de medio de cultivo solas o combinadas como se detalla en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Variante de medios de cultivos en la fase de multiplicación.

Tratamientos	*GA ₃ (g/L ⁻¹)	**BAP (g/L ⁻¹)
1	0.00	0.00
2	0.10	0.50
3	0.10	1.00
4	0.20	0.50
5	0.20	1.00

* Ácido giberélico

** N-6 bencilaminopurina (BAP)

3.6. Fase de microtuberización

3.6.1. Multiplicación por microesquejes

Con las plantas formadas a las cuatro semanas en la fase de multiplicación se procedió a cortar microesquejes de aproximadamente 1 cm de longitud para inocularlos posteriormente en la mejor variante de medio de cultivo por cultivar. Transcurridas cuatro semanas las plantas presentaban las características morfológicas adecuadas para proceder a realizarle los cortes y la siembra de 40 microesquejes por cada BEIT de 2000 ml.

Las condiciones ambientales en las que crecieron los microesquejes fueron similares a las que se definieron en la fase de multiplicación de 22 ± 1 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas en oscuridad y una intensidad de 2000 lux.

3.6.2. Inducción de la microtuberización

Para el estudio de microtuberización en los cultivares Karú y Pampeana, se tomaron plantas formadas en un período de cuatro semanas sin efectuarles cortes de microesquejes como se realizó en la fase de multiplicación, únicamente se extrajo el medio de cultivo contenido en cada BEIT, procedimiento que se realizó dentro en condiciones de asepsia en la cámara de flujo laminar. En la foto 4 se observan las plantas de los cultivares Karú y Pampeana a las cuatro semanas.



Foto 4. Plantas de papa formadas a las cuatro semanas en un medio de cultivo de multiplicación en BEIT: Izquierda; cultivar Karú. Derecha; cultivar Pampeana.

Para la inducción de microtubérculos se evaluaron cinco variantes de medios de cultivo conformadas por cinco concentraciones diferentes de sacarosa que se adicionaron a los BEIT. Finalizada la adición de las variantes de medios de cultivo se procedió a cubrir los BEIT con láminas de aluminio para impedir la entrada de luz a las plantas, procedimiento que favorece el proceso de microtuberización como lo reportan Jiménez (1999) y Sánchez y Rocha (2015). Ver foto 5.



Foto 5. Plantas de los cultivares Karú y Pampeana en BEIT cubiertos con lámina de aluminio en la fase de microtuberización.

Las condiciones de crecimiento de las plantas sometidas al proceso de producción de microtubérculos durante seis semanas fueron temperatura de 22 ± 1 °C y en oscuridad total con el procedimiento descrito en el párrafo anterior. Después de dos semanas de permanecer las plantas en los correspondientes medios de inducción de la microtuberización, se procedió a hacer cambio a un medio fresco conservando los tratamientos correspondientes en los BEIT. Los tratamientos para la microtuberización se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Variantes de medios de cultivo en la inducción de microtuberización de los cultivares de papa Karú y Pampeana.

Tratamientos	Sacarosa (g L⁻¹)
1	40
2	50
3	60
4	70
5	80

3.6.3. Reproducción por esquejes

La producción de plántulas por esquejes en el sistema autotrófico hidropónico (SAH) es una tecnología innovadora para reproducir plántulas de papa permite alcanzar altas tasas de multiplicación durante un periodo muy corto de tiempo. En la mayoría de los programas de mejoramiento la micropropagación tradicional es la base para la difusión de los nuevos cultivares. <http://www.esp.sahtecno.com>.

Para incrementar el número de plantas de los cultivares Karú y Pampeana como material inicial, se partió de microtubérculos germinados de cada cultivar con aproximadamente 6 a 8 cm de longitud de tallo y con 6 hojas formadas. Para la extracción de los esquejes se tomaron solamente de yemas apicales y las primeras yemas axilares (Foto 6).



Foto 6. Izquierda superior; Plántulas de papa provenientes de microtubérculos germinados; Izquierda inferior; tipo de yema axilar, yema apical; Derecha; siembra de esquejes por tipo de yema.

De los esquejes extraídos de los microtubérculos germinados se sembraron 80 esquejes por tipo de yema y cultivar en bandejas de plástico. Se agregaron 300 gramos de sustrato compuesto por una mezcla con dos partes de turba (Kekkila) y una de arenilla previamente colada, lavada y esterilizada en el horno a temperaturas de 180 °C durante dos horas. La siembra se realizó de forma separada por tipo de yema y por concentración de IBA, se adicionó en cada caja con sustrato la cantidad de 250 ml de solución nutritiva hidropónica formulada por el Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral reportada por la Universidad Nacional Agraria, La Molina (2003).

La solución hidropónica La Molina® fue formulada considerando que las plantas deben recibir un balance nutricional adecuado para lograr producir fuera de suelo, ya sea a través de sistemas hidropónicos (sistemas en agua), o en sistemas que usan sustratos. La cual consiste de dos soluciones concentradas, denominadas A y B.

http://www.lamolina.edu.pe/hidroponia/sol_presentacion.htm.

Previo a la siembra a cada recipiente se le agregó a la solución hidropónica con Ácido indol-3-butírico (IBA) de acuerdo a las concentraciones que se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Variantes de la solución hidropónica de los cultivares de papa Karú y Pampeana.

Tratamiento	* IBA (mg/L ⁻¹)	Tipo de yema	
1	0.00		
2	0.25		
3	0.50	Yema apical	Yema axilar
4	0.75		
5	1.00		

* Ácido indol-3-butírico (IBA)

Las características físicas del sustrato Kekkila se describen en: <http://www.litecperu.com>.

Posterior a la siembra de los esquejes de yemas apicales y axilares por cultivar y tratamiento en las bandejas un total de 20 bandejas fueron llevadas al cuarto de crecimiento bajo condiciones ambientales de 22 ± 1 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas en oscuridad y una intensidad de 2000 lux. Se le suministraron dos riegos con solución hidropónica cada cuatro días durante el un período de diez días. (Foto 7).



Foto 7. Plántulas de papa de los cultivares de Karu y Pampeana con diez días de establecido el ensayo en el cuarto de crecimiento.

3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

3.7.1. Fase de multiplicación

VARIABLES EVALUADAS

De cada BEIT se procedió a evaluar un número de 20 plantas a las cuatro semanas de establecido el experimento, las variables evaluadas fueron:

- a.** Longitud de planta (cm), se midió a partir de la base al ápice.
- b.** Número de hojas
- c.** Brotación de yemas axilares

DISEÑO DE EXPERIMENTO

Se estableció en un diseño de bloques completos al azar (BCA) con arreglo unifactorial, cada bloque estaba conformado por 2 BEIT que constituían un tratamiento de 80 microesquejes distribuidos en número de 40 observaciones por cada BEIT. En las cinco variantes de medio de cultivo que se sembraron por cultivar en total 400 microesquejes en 10 BEIT.

Los datos de las variables longitud de planta, número de hojas y brotación de yemas axilares, se les practicaron análisis de varianza (ANDEVA) y para determinar el grado de significación entre las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5% de probabilidad. Los datos se procesaron y analizaron en el programa estadístico de Software INFOSTAT versión 2015.

Modelo Aditivo Lineal (MAL) para el Diseño de Bloques Completos al Azar (BCA)

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

i= Tratamientos: Variaciones de los medios

j= Bloques;

Y_{ij} = Es la j-ésima observación del i-ésimo tratamiento

μ = Es la media poblacional

T_i = Es el efecto del i-ésimo tratamiento

β_j = Es el efecto del j-ésimo bloque

ϵ_{ij} = Es el efecto aleatorio de variación

3.7.2. Fase de microtuberización

VARIABLES EVALUADAS

De cada BEIT se procedió a evaluar un número de 80 plantas por cultivar a las seis semanas de establecido el experimento, las variables evaluadas fueron las siguientes:

- a. Longitud de microtubérculo
- b. Diámetro de microtubérculo
- c. Peso fresco de cada microtubérculo
- d. Número de tubérculos por planta

DISEÑO DE EXPERIMENTO

Se utilizó un diseño BCA con arreglo unifactorial, cada bloque conformado por dos BEIT, conteniendo cada BEIT 40 plantas y un total de 80 por bloque. Los datos de las variables longitud, diámetro y peso fresco de los microtubérculos fueron analizadas mediante una prueba de ANDEVA. Para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5%. Los datos fueron procesados y analizados en el programa. Estadístico de Software INFOSTAT versión 2015.

Modelo Aditivo Lineal (MAL) para el Diseño de Bloques Completos al Azar (BCA)

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

i = Tratamientos: Variaciones de los medios

j = Bloques;

Y_{ij} = Es la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento

μ = Es la media poblacional

T_i = Es el efecto del i -ésimo tratamiento

β_j = Es el efecto del j -ésimo bloque

ϵ_{ij} = Es el efecto aleatorio de variación

Se determinó el porcentaje de microtubérculos producidos por planta en los dos BEIT en las cinco variantes de medios de cultivo. Los resultados se presentan en una figura en cada cultivar.

3.7.3. Reproducción por esquejes

VARIABLES EVALUADAS

De cada variante de solución hidropónica se procedió a evaluar un número de 40 plantas a los diez días de establecido el experimento, las variables evaluadas fueron las siguientes:

- a. Longitud de planta (cm), se midió a partir de la base al ápice.
- b. Número de yemas
- c. Número de raíces
- d. Longitud de raíces (cm)

DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Para medir el efecto de los tratamientos sobre tres expresiones morfológicas de las yemas se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar con arreglo bifactorial, donde el Factor "A" las variantes de solución hidropónica; Factor "B" tipos de yemas (apical, axilar), con dos repeticiones por tratamiento, el número de observaciones por unidad experimental fue de 20 plantas.

El Modelo Aditivo Lineal (MAL) para el Diseño Bifactorial en Bloques Completos al Azar

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Es la j-ésima observación del i-ésimo tratamiento

μ = Es la media poblacional

α_i = Es el efecto del i-ésimo tratamiento del factor A

β_j = Es el efecto del j-ésimo tratamiento del factor B

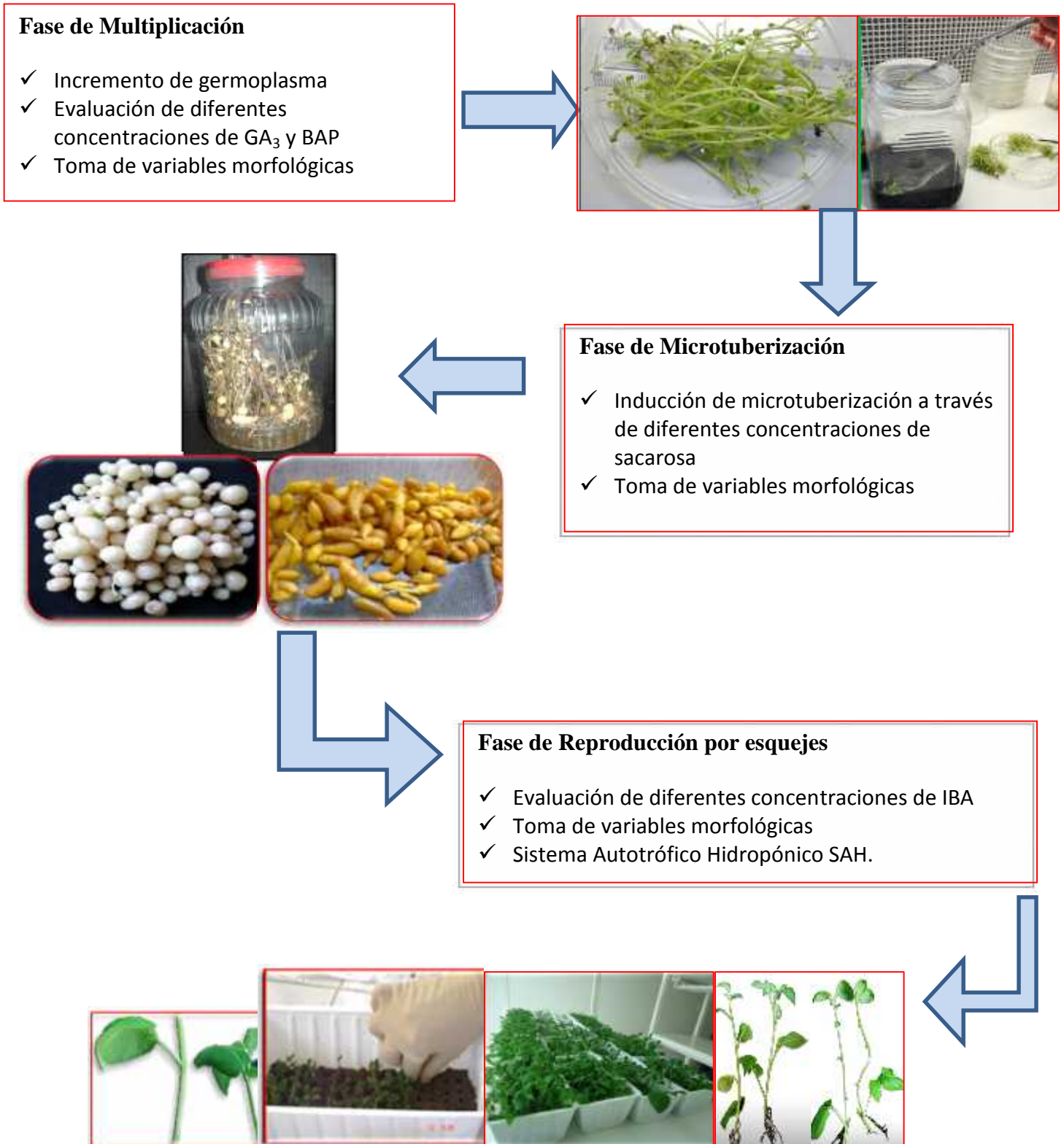
$(\alpha\beta)_{ij}$ = Es la interacción entre el factor A y el factor B

γ_k = Es el efecto del k-ésimo bloque o repetición

ϵ_{ijk} = Es el efecto aleatorio de variación

Los datos de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y longitud de raíces fueron analizadas mediante una prueba de ANDEVA. Para determinar las diferencias estadísticas entre las variantes de solución nutritiva y los tipos de yemas se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5% de probabilidad. Los datos fueron procesados y analizados en el Programa Estadístico de Software INFOSTAT versión 2015.

3.7.4 Esquema de producción de minitubérculos de papa de los cultivares Karú y Pampeana producidos en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal (BEIT) y su multiplicación por esquejes extraídos de yemas apicales y axilares.



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase de multiplicación por cultivar

4.1.1 Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en tres expresiones morfológicas por planta del cultivar Karú

El objetivo de la fase de multiplicación es obtener plantas que presenten un buen crecimiento, buen aspecto vigoroso del tallo y hojas grandes, expresiones morfológicas para favorecerán el desarrollo de los microtubérculos aéreos una vez que estas plantas se transfieran al medio de cultivo adecuado para la inducción de la microtuberización.

En el tratamiento testigo, las variables longitud de planta y número de hojas fueron superiores en su respuesta estadística en relación a la obtenida en las otras variantes de medios de cultivo presentando promedios respectivos de 11.50 cm y 9.80. En las variantes de medios de cultivo que se les agregaron concentraciones de 0.10 o 0.20 mg L⁻¹ GA₃ combinadas con 1 mg L⁻¹ de BAP las respuestas estadísticas resultaron inferiores en las variables longitud de planta y número de hojas por planta. Se observó que el incremento en los promedios de longitud de planta coincidía con el incremento en el número de hojas por planta. En el cuadro 4 se presentan los resultados.

Contrario al buen comportamiento estadístico que presentaron las variables longitud de planta y número de hojas en el medio de cultivo sin reguladores del crecimiento, en la variable número de brotes por planta se obtuvo un promedio de 2.54 que resultó inferior estadísticamente. Los resultados que se presentaron en las variables longitud, número de hojas y número de brotes axilares por planta, indican que cuando el objetivo es la multiplicación por microesquejes en el cultivar Karú, no es necesario agregar reguladores del crecimiento al medio de cultivo, por tanto debe ser el medio de cultivo óptimo para la fase de multiplicación.

Cuadro 4. Efecto del GA₃ y el BAP en longitud de plantas y el número de hojas por planta del cultivar Karú en la fase de multiplicación en los BEIT a las cuatro semanas.

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Longitud de planta (cm) M ± EE	Número de hojas por planta M ± EE	Número de brotes axilares por planta M ± EE
	GA ₃	BAP			
	(mg L ⁻¹)				
1	0.0	0.0	11.50±0.39 a	9.80±0.34 a	3.44±0.56 ab
2	0.10	0.50	8.32±0.22 b	6.76±0.23 bc	3.16±0.11 ab
3	0.10	1.00	7.18±0.09 c	5.70±0.14 d	3.96±0.45 a
4	0.20	0.50	8.78±0.22 b	7.32±0.32 b	3.20±0.20 ab
5	0.20	1.00	7.32±0.17 c	6.12±0.20 cd	2.54±0.25 b

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr < 0.05).

* Medias ± Error Estándar

Los resultados obtenidos en el cultivar Karú superaron los rangos reportados por Ortiz y Zeledón (2016) en el cultivar de papa Burren en las variables longitud con rangos entre 6.76 y 9.09 cm y en número de brotes axilares por planta entre 0.80 y 2.48. Sánchez y Rocha (2015) en el cultivar Servané en fase de multiplicación reportan en las variantes de medios de cultivo que contenían GA₃ y BAP un promedio de brotes axilares con rango inferior de 3.18 que resultó mayor al rango inferior obtenido en el cultivar Karú que fue de 2.54. El rango máximo que presentó Servané fue de 3.73 de brotes axilares, esta rango resultó inferior al logrado en el cultivar Karú que fue 3.96.

4.1.2. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en tres expresiones morfológicas por planta del cultivar Pampeana

En el cultivar Pampeana cuando se combinaron concentraciones de 0.20 mg L⁻¹ GA₃ con 1.00 mg L⁻¹ de BAP la longitud de planta superó significativamente a los promedios alcanzados en los demás tratamientos. En esa misma variante de medio de cultivo se obtuvo un buen promedio de hojas por planta aunque no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos.

La dominancia apical puede afectar el proceso de desarrollo de los microtubérculos a partir de los microesquejes, porque las plantas que se forman presentan un alto nivel de brotación de yemas axilares de reducida longitud. Si la planta crece con una buena longitud, con un buen promedio de hojas o nudos producidos y además que las hojas emitidas sean grandes, es una evidencia que las plantas crecieron en el medio de cultivo adecuado al genotipo y en condiciones óptimas de luz y temperatura. En el cultivar Pampeana el medio de cultivo que resultó adecuado para la fase de multiplicación fue al que se le adicionaron a las sales MS concentraciones de 0.20 mg L⁻¹ GA³ y 1.00 mg L⁻¹ de BAP; en esta variante de medio de cultivo se presentaron resultados estadísticos con buenos promedios en longitud y número de hojas por planta, pero el promedio de brotes axilares producidos por planta presentó menor respuesta alcanzando la menor categoría estadística, Cuadro 5.

Así mismo, Orbe (2014) destaca que el inductor de crecimiento GA₃ utilizado en la fase de multiplicación favoreció al crecimiento y desarrollo de las plántulas en medio líquido lo que aparentemente parece generar mayor engrose de los microtubérculos, situación similar a lo ocurrido por Ortíz y Zeledón (2016) con la cultivar Banba.

Cuadro 5. Efecto del GA₃ y el BAP en longitud de plantas y el número de hojas por planta del cultivar Pampeana en la fase de multiplicación en los BEIT a las 4 semanas.

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Longitud de planta (cm) *M ± EE	Número de hojas por planta *M ± EE	Número de brotes axilares por planta *M ± EE
	GA ₃	BAP (mg L ⁻¹)			
1	0.0	0.0	9.70±0.13 bc	7.04±0.17 ab	5.12±0.46 a
2	0.10	0.50	10.04±0.28 b	7.16±0.41 ab	4.14±0.55 ab
3	0.10	1.00	9.96±0.34 b	7.03±0.28 ab	3.62±0.40 b
4	0.20	0.50	9.06±0.15 c	6.38±0.22 b	3.72±0.23 b
5	0.20	1.00	8.84±0.15 a	7.24±0.18 a	2.98±0.15 b

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr > 0.05).

* Medias ± Error Estándar

En los cultivares Karú y Pampeana es evidente que hubo una respuesta genotípica diferente cuya tendencia favoreció a Karú de acuerdo a los promedios obtenidos en las variables longitud y número de hojas por planta.

Srivastava *et al.*, (2012) estudiaron seis cultivares de papa reportando a las seis semanas mayor elongación de planta en un medio de cultivo MS que contenía de 2 mg L⁻¹ de D-pantotenato de calcio, 0.1 mg L⁻¹ de GA₃, 0.01 mg L⁻¹ de ANA y 30 g L⁻¹ de sacarosa y solidificado con agar 7.0 g L⁻¹ con un rango de medias en longitud de plantas entre 5.1 y 10.4 cm y número de nudos entre 4.8 y 8.5. Comparando los resultados obtenidos por Srivastava *et al.*, (2012) con los obtenidos en los cultivares Karú y Pampeana, evidencian que además de la respuesta genotípica, el sistema BEIT favorece el estímulo en las plantas en longitud y el número de hojas o entrenudos, aun cuando las plantas crezcan en un medio de cultivo con menor cantidad de constituyentes y permanezcan en esa fase solamente cuatro semanas. No se alcanzaron los resultados reportados en promedios de las variables longitud y número de hojas (entrenudos) logrados por Jiménez *et al.*, (1999) en los cultivares Désiré y Atlantic en el Sistema Inmersión Temporal (SIT) con recipientes con capacidad de 4000 ml.

Moreno (2012) señala que en el cultivo de papa el efecto del cultivar influye en la dinámica de crecimiento de los tejidos, pero además inciden otros factores como los recipientes, la densidad de siembra, la consistencia de los medios de cultivo, fotoperiodo y la intensidad de luz, así como el tiempo de permanencia de los tejidos en medio de cultivo. Tanto en Karú como en Pampeana la superficie de las hojas, la longitud de la planta y de los entrenudos, pudieron haber sufrido influencia de la intensidad de luz que recibieron los tejidos tanto dentro del recipiente como en el cuarto de crecimiento, de forma tal que cuando la luz es deficiente provoca adelgazamiento en las plantas, presentándose el fenómeno de etiolación que produce características tales como hojas pequeñas, entrenudos alargados y pérdida del color verde en las hojas y tallos.

4.2. Fase de microtuberización por cultivar

4.2.1. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en la microtuberización del cultivar Karú

Las variables peso, diámetro y la longitud de microtubérculos presentaron similar respuesta estadística en los medios de cultivo que se les agregaron 70 y 80 g L⁻¹. Tomando en consideración la respuesta de estas tres variables evaluadas, se determinó que concentraciones de sacarosa entre los 70 y 80 g L⁻¹ favorecieron la producción de microtubérculos de mayor tamaño, expresión que es de mucha importancia una vez que éstos sean sembrados para obtener minitubérculos bajo infraestructuras que faciliten el control de vectores que transmiten virus o bacterias, otra alternativa es obtener los minitubérculos a partir de microtubérculos de buen tamaño sembrados directamente en el campo. Ziv y Shemenst (1996); citados por Igarza *et al.*, (2011) en la microtuberización de papa en biorreactores evaluaron el efecto de la renovación del medio de cultivo cada dos semanas y lograron un rápido crecimiento de los microtubérculos, debido a los altos niveles de sacarosa que son necesarios para el desarrollo de los microtubérculos. Los resultados se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Efecto de la sacarosa en la media de peso, diámetro y la longitud de microtubérculos del cultivar Karú

Variante del medio MS (1962)	Sacarosa (g L ⁻¹)	Peso fresco de microtubérculos (g) *M ± EE	Diámetro (cm) *M ± EE	Longitud (cm) *M ± EE
1	40	0.79±0.03 c	0.87±0.03 b	0.92±0.05 b
2	50	0.83±0.02 bc	0.94±0.04 ab	0.97± 0.03 ab
3	60	0.84±0.01 bc	0.96±0.02 ab	1.01±0.06 ab
4	70	0.92±0.03 a	1.00±0.04 a	1.14±0.09 a
5	80	0.89±0.03 ab	0.99±0.03 a	1.02±0.05 ab

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr 0.05).

* Medias ± Error Estándar

La forma de los microtubérculos de Karú fueron ligeramente alargados y de un color anaranjado características que difieren a las que presentan los tubérculos obtenidos en condiciones de campo que presentan una forma oval alargada y su epidermis o cutícula es de color roja y pulpa amarilla clara. Los microtubérculos de Karú se aprecian en la foto 8.

Perdomo y Páez (2018) reportaron que la forma y color de la pulpa y piel de los microtubérculos de los cultivares Atlantic, Majestic, Patrones, Saco y Sebago tendieron a ser similares a los tubérculos *in vivo*. Orbe (2014), reportó en el cultivar Superchola un diámetro promedio de 0.52 cm, con un alargamiento de los microtubérculos y ciertas deformaciones atribuidos al regulador de crecimiento BAP, lo que repercutió en el pequeño tamaño de los microtubérculos. Wazir *et al.*, (2015), emplearon un medio de inducción para la microtuberización del cultivar Desiré que contenía las sales de Murashige y Skoog (1962) MS más el suministro de 1.0 mg L⁻¹ Ca-pentothinato, 0.25 mg L⁻¹ ácido giberélico (GA₃), con cinco diferentes concentraciones de sacarosa 0, 3, 6, 8, y 11%, reportando medias de peso fresco entre 0.055-0.097 gramos y diámetro entre 0.53-0.68 cm.

La inmersión temporal es una opción valiosa para la producción de microtubérculos de papa, la técnica no sólo induce más tubérculos por planta que en medio de cultivo sólido, sino que también aumenta el tamaño y el peso de los tubérculos (Igarza *et al.*, 2011).

En el cultivar Karú se produjeron microtubérculos de mayor diámetro y presentaron una forma cónica, alargados, como se observa en la foto 8.



Foto 8. Microtubérculos del cultivar Karú en BEIT a las seis semanas.

La respuesta del cultivar Karú demuestra que en el proceso de inducción de la microtuberización existen factores endógenos que influyen en su tamaño y forma como es el genotipo y los factores exógenos como el ambiente interno y externo de los contenedores donde se desarrollaron los microtubérculos como la oscuridad, la luz y la temperatura, además de los contenidos y consistencia de los medios de cultivo.

El número de microtubérculos producidos por planta en el cultivar Karú estuvo en el rango de 0.76 a 1.05, rango que ligeramente se incrementó en la medida que se agregó mayor dosis de sacarosa a los medios de cultivo, de manera que la sacarosa no solo estimuló el incremento en tamaño de los microtubérculos aéreos, sino que también permite mejorar el promedio producido por planta. En la figura 1 se presenta el número promedio de microtubérculos producidos por el cultivar Karú en cada uno de los tratamientos.

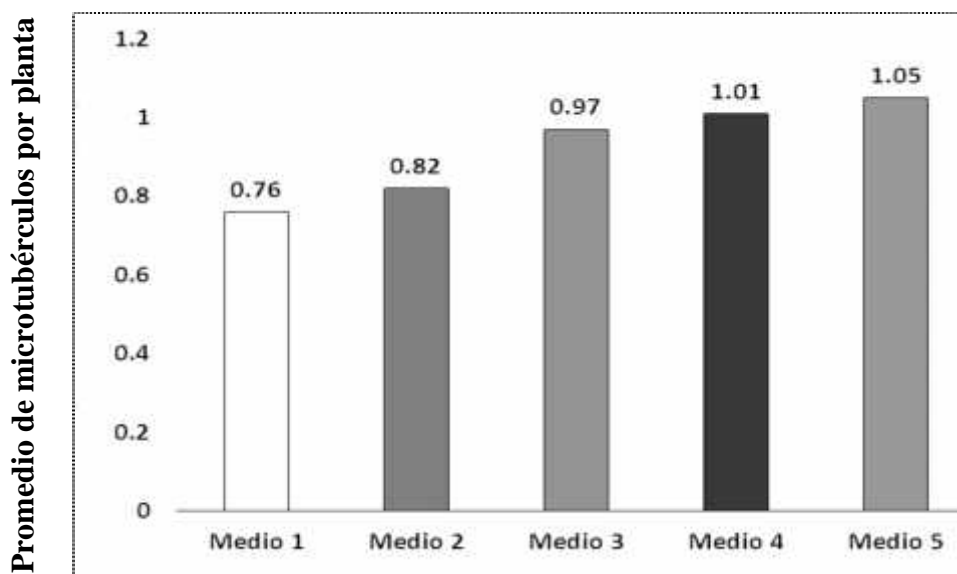


Figura 1. Promedio de microtubérculos producidos por planta del cultivar Karú a las seis semanas en los cinco tratamientos.

4.2.2. Efecto de cinco variantes de medio de cultivo en la microtuberización del cultivar Pampeana

Los microtubérculos son semilla de papa en miniatura y representan una fase intermedia entre las plantas *in vitro* y los minitubérculos. Estudios del metabolismo de los carbohidratos en los tubérculos se han beneficiado con la utilización de sistemas de microtubérculos, demostrando

que la sacarosa es el sustrato externo de carbono obligatorio para la inducción y desarrollo de microtubérculos (Leclerc *et al.*, 1994). Los microtubérculos son la primera generación de semilla de papa del cultivo de tejidos: se utilizan para resolver los problemas de trasplantar las plántulas *in vitro* a condiciones *in vivo*. Los microtubérculos tienen muchas ventajas, gracias a su pequeño tamaño y peso reducido, sobre todo en almacenamiento, transporte y mecanización. Se pueden plantar en el suelo y se pueden producir en cualquier momento del año. Los microtubérculos tienen similar morfología y características bioquímicas que los tubérculos tradicionales. La producción de microtubérculos *in vitro* es muy importante para la producción y el almacenamiento de un cultivar valioso de papa (Nistor, *et al.*; 2010).

En el tratamiento testigo que contenía como medio de cultivo las sales MS con 40 g L⁻¹ de sacarosa se presentaron las menores categorías estadísticas de acuerdo a la prueba de medias de Duncan en las variables peso fresco, diámetro y longitud de los microtubérculos que se formaron a las seis semanas. Entre los medios de cultivo que se adicionaron de 70 y 80 g L⁻¹ de sacarosa no se presentaron diferencias estadísticas significativas en las tres variables evaluadas. Únicamente el tratamiento que contenía 70 g L⁻¹ de sacarosa fue estadísticamente superior al tratamiento testigo en las tres variables evaluadas. Los resultados se presentan en el cuadro 7.

Cuadro 7. Efecto de la sacarosa en la media de peso, diámetro y la longitud de microtubérculos del cultivar Pampeana.

Variante del medio MS (1962)	Sacarosa (g L ⁻¹)	Peso fresco de microtubérculos (g) *M ± EE	Diámetro (cm) *M ± EE	Longitud (cm) *M ± EE
1	40	0.59±0.03 c	0.72±0.03 b	0.82±0.05 b
2	50	0.63±0.02 bc	0.79± 0.04 ab	0.86±0.03 ab
3	60	0.65±0.01 abc	0.81±0.02 ab	0.91±0.06 ab
4	70	0.71±0.03 a	0.85±0.04 a	1.04±0.08 a
5	80	0.68±0.03 ab	0.84±0.03 a	0.92±0.05 ab

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr 0.05).

*Medias ± Error Estándar

Estudio realizado por Sánchez y Rocha (2015) en el cultivar Servane reportaron que los microtubérculos presentaron medias en peso fresco entre los 0.4-0.6 g en variantes de medios de cultivo que se agregaron concentraciones de sacarosa de 80, 90, 100 y 110 g L⁻¹. Los promedios de peso fresco que se alcanzaron en los microtubérculos del cultivar Pampeana estuvieron en el rango comprendido entre 0.59-0.71 g; mientras que en diámetro y longitud se obtuvieron promedios respectivos en el rango entre 0.72-0.85 cm y entre 0.82-1.04 cm que resultaron superiores al rango entre 0.50 y 0.59 en diámetro y entre 0.73 y 0.85 cm de longitud reportados por Sánchez y Rocha (2015) en el cultivar Servane. No obstante el cultivar Pampeana fue inferior en comparación a los rangos de los promedios logrados en el el cultivar Karú con diámetros entre los 0.87-1.00 cm y en longitud entre 0.92 y 1.14 cm. La respuesta diferente en los cultivares Karú y Pampeana de acuerdo a las variables evaluadas en los microtubérculos, pudo deberse a una respuesta genotípica que también se observa en condiciones de campo donde Karú produce tubérculos de mayor tamaño que Pampeana.

Piedra (2014) concluyó tras haber utilizado 80 g L⁻¹ de sacarosa que es el mejor inductor de tuberización promoviendo un mayor número de microtubérculos, con un mejor diámetro, así como mejor peso fresco y peso seco, reportando mejores resultados en diámetros de 0.55 cm y 0.43 cm para las cultivares INIAP-Victoria y Superchola respectivamente, diámetros que resultaron ser inferiores a los logrados por los cultivares Karú y Pampeana cuando se empleó la misma cantidad de sacarosa y se incrementó el diámetro cuando se suministraron mayores cantidades de sacarosa al medio de cultivo.

Pruski et al., (2003) afirman que los microtubérculos de papa producidos en biorreactores de inmersión temporal con mayor tamaño y masa fresca, son los más deseados para la producción comercial, porque pueden ser usados para obtener minitubérculos en condiciones de casa de cultivo o pueden ser plantados en campo sin previa fase de aclimatación, o almacenados durante un período determinado de tiempo, sin pérdida excesiva de masa fresca que puedan afectar su brotación.

Khuri y Moorby (1995) recomiendan que se deban adicionar una concentración relativamente alta de sacarosa (80 g L^{-1}) en los biorreactores para la producción de microtubérculos grandes y mantener un suministro adecuado de sacarosa en toda la etapa de crecimiento para un crecimiento óptimo de los microtubérculos. Sin embargo, el mantenimiento de una alta concentración de sacarosa es muy difícil debido a la rápida hidrólisis de la sacarosa en los biorreactores.

Yu *et al.*, (2000) determinaron que los microtubérculos producidos en un biorreactor de rotación crecieron a un ritmo más rápido y alcanzaron mayor peso cuando el medio de cultivo se reemplazó frecuentemente. Aunque el número total de microtubérculos no fue afectado, el número de microtubérculos con más de un gramo de peso se cuadruplicó cuando se sustituyó el 75% del medio de cultivo cada dos semanas en comparación cuando el medio de cultivo no fue reemplazado durante el proceso de microtuberización.

Los microtubérculos del cultivar Karú presentaron epidermis color anaranjado propio de su genotipo, mientras que en el cultivar Pampeana los microtubérculos presentaron una epidermis color crema. Además de ser una expresión genotípica el color crema de Pampeana posiblemente se ve favorecido por ser más sensible a las condiciones de falta de exposición a la luz, incidiendo que tanto en las plantas como en los microtubérculos presentaran aspecto etiolado. Gopal *et al.*, (1998) reportan una tasa más rápida de microtuberización acompañada de una senescencia temprana de las plántulas por efecto de la oscuridad.

Otra diferencia que el cultivar Pampeana presentó en relación al cultivar Karú fue en la forma de los microtubérculos que resultaron ser más esféricos. En la foto 9 se observa el color y forma de los microtubérculos de Pampeana.



Foto 9. Microtubérculos del cultivar Pampeana en BEIT a las seis semanas.

Una característica común en los dos cultivares fue la presencia de lenticelas en microtubérculos de todos los tamaños. Rivera *et al.*, (2008) observaron que en algunas accesiones de papa estudiadas, aunque presentaron buena producción de microtubérculos, estos mostraron hiperhidratación en medios de inducción de la microtuberización y de consistencia líquida. Además, registraron una reducción en el número de yemas, aumento en el tamaño de las lenticelas y formación de "callosidad" sobre el periderma de los microtubérculos, que al parecer estuvieron relacionadas con concentraciones de los inductores de tuberización BAP y cloruro de clorocolina (CCC), principalmente en dosis altas o cuando se empleó solamente CCC.

Igarza *et al.*, (2015) en el cultivar Andinita obtuvieron microtubérculos de mayor tamaño y producidos en mayor cantidad por planta por el efecto que produjo la frecuencia de inmersión cada 4 horas. Rivera *et al.*, (2008) reportan que en algunas accesiones de papa produjeron una buena producción de microtubérculos, pero mostraron hiperhidratación en los medios de cultivo de inducción de la microtuberización de consistencia líquida.

El número de microtubérculos producidos por planta del cultivar Pampeana únicamente superó el promedio de 0.90 cuando se adicionaron concentraciones de sacarosa entre 60 y 80 g L⁻¹ a los medios de cultivo, promedios ligeramente inferiores a los que se lograron en el cultivar Karú (Ver Figura 2).

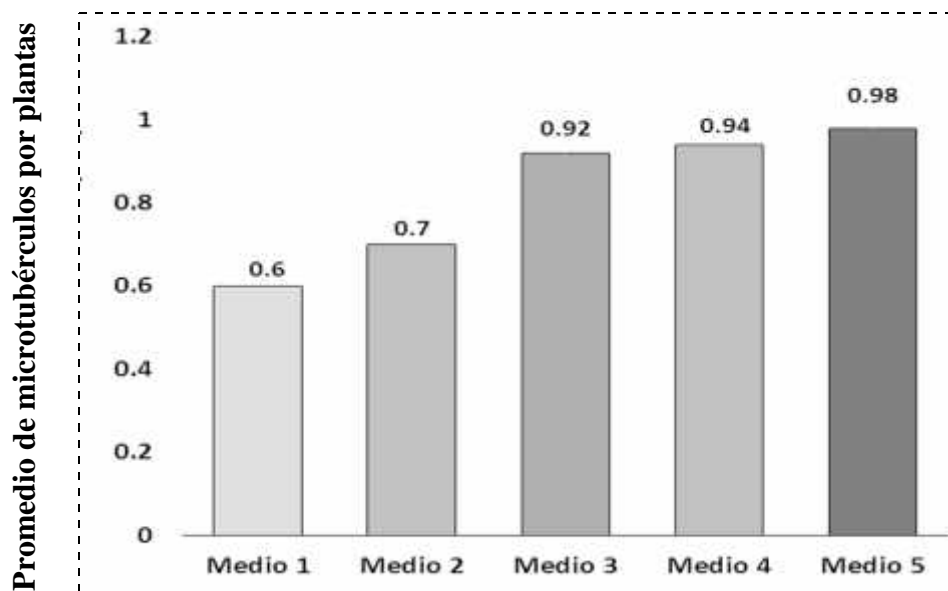


Figura 2. Promedio de microtubérculos producidos por planta del cultivar Pampeana a las seis semanas en los cinco tratamientos.

Con estos resultados empleando BEIT se comprueba que en el cultivo de papa para obtener microtubérculos de mayor tamaño es necesario incrementar la concentración de sacarosa en los medios de cultivo, pero la producción del número de microtubérculos por planta parece que intervienen otros factores como las condiciones internas que prevalecen dentro de los BEIT o la frecuencia de inmersiones suministradas a los tejidos que solo fue de una cada 24 horas.

4.3. Reproducción por tipos de yemas apicales y axilares

4.3.1. Reproducción por yemas en el cultivar Karú

Yemas apicales sembradas en el sustrato *kekkyla* humedecido con una solución nutritiva enriquecida con concentraciones de 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de IBA estimularon el mayor crecimiento de las plantas formadas de acuerdo al comportamiento estadístico de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces. Con adición de 1.00 mg L⁻¹ de IBA la media de la variable longitud de planta fue de 11.82 cm, resultando únicamente similar a la media de 10.60 cm obtenida en el sustrato que se le adicionó 0.75 mg L⁻¹ de IBA. Además con una media de 11.82 cm superó significativamente a las medias que se obtuvieron con la siembra de yemas axilares. En todas las variantes de medios de cultivo en las variables número de yemas y de raíces por planta se obtuvieron mejores medias con la siembra de yemas apicales en comparación con la siembra de yemas axilares.

La siembra de yemas axilares originaron plantas que presentaron medias en longitud de planta con similar comportamiento estadístico en los sustratos que se les agregaron 0.00, 0.25, 0.75 y 1 mg L⁻¹ de IBA con medias respectivas de 6.54, 6.05, 7.11 y 6.86 cm. Con adición de 0.50 mg L⁻¹ de IBA únicamente superó a las medias de longitud de plantas que se registraron en los sustratos conteniendo 0.00, 0.25 mg L⁻¹ de IBA. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las medias obtenidas de yemas axilares en las variables número de yemas y número de raíces por efecto de todas las variantes de medios de cultivo. Los resultados se presentan en el cuadro 8.

En base a las medias obtenidas en las variables evaluadas longitud de planta, número de yemas y número de raíces, la adición de 0.75 mg L⁻¹ de IBA al sustrato resulta ser mejor para la formación de plantas a partir de la siembra de yemas apicales del cultivar Karú. Mientras que con la siembra de yemas axilares en el sustrato con 0.50 mg L⁻¹ de IBA favoreció a una mejor respuesta estadística en las variables longitud de plantas y longitud de raíces con promedios respectivos de 8.27 cm y 4.53 cm. Con estos resultados se confirma que la procedencia de las yemas sea apical o axilar tiene una respuesta diferente por efectos de dominancia y del balance hormonal endógeno.

Cuadro 8. Efecto de dos tipos de yemas extraídas a los 10 días de microtubérculos del cultivar Karú a concentraciones de 0, 0.25, 0.50 0.75 y 1.00 mg/l-1 de IBA en base a la respuesta de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces.

*Tratamiento	Variante IBA (mg L ⁻¹)	Tipo de yema	Longitud de planta (cm) **M ± EE	Número de yemas *M ± EE	Longitud de raíces (cm) **M ± EE	Número de raíces **M ± EE
T1Y1	0	Apical	7.68±0.64 def	5.00±0.45 b	1.89±0.25 e	8.65±1.68 b
T2Y1	0.25	Apical	8.93±0.15 cd	5.55±0.10 ab	2.65±0.32 de	9.85±0.53 b
T3Y1	0.5	Apical	9.64±0.31 bc	5.80±0.28 a	3.42±0.23 abcd	14.35±1.02 a
T4Y1	0.75	Apical	10.60±0.31 ab	5.04±0.17 ab	3.55±0.58 abcd	13.27±0.74 a
T5Y1	1	Apical	11.82±0.31 a	5.75±0.19 ab	4.44±0.26 ab	14.69±0.49 a
T1Y2	0	Axilar	6.54±0.40 fg	2.40±0.24 c	2.93±0.11 cde	2.40±0.18 c
T2Y2	0.25	Axilar	6.05±0.66 g	2.80±0.32 c	3.85±0.48 abc	3.70±0.44 c
T3Y2	0.5	Axilar	8.27±0.46 cde	2.70±0.21 c	4.53±0.44 a	3.35±0.29 c
T4Y2	0.75	Axilar	7.11±0.55 efg	2.40±0.14 c	3.38±0.20 bcd	3.35±0.10 c
T5Y2	1	Axilar	6.86±0.32 efg	2.25±0.15 c	2.87±0.31 cde	2.90±0.26 c

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr = 0.05).

* Variantes de los tratamientos T1...T5, Y1 (Yema apical) Y2 (Yema axilar)

** Medias ± Error Estándar

4.3.2. Reproducción por yemas en el cultivar Pampeana

Con la siembra de yemas apicales en el sustrato que contenía la solución nutritiva enriquecida con concentraciones de 0.50 y 0.75 mg/l⁻¹ de IBA, en longitud de planta se presentaron medias significativamente superiores de 8.82 y 10.05 respectivamente, lo que permitió clasificarlas con la máxima categoría estadística.

Además, se observó que cuando a la solución nutritiva se le agregaron concentraciones de 0.50 y 0.75 mg/l⁻¹ de IBA, se produjo un buen crecimiento de las plantas formadas en base al comportamiento estadístico de las variables longitud de planta y número de yemas. Los resultados se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9. Efecto de dos tipos de yemas extraídas a los 10 días de microtubérculos germinados del cultivar Pampeana a concentraciones de 0, 0.25, 0.50 0.75 y 1.00 mg/l⁻¹ de IBA en base a la respuesta de las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces.

Tratamiento	Variante IBA	Tipo de yema	Longitud de planta	Número de yemas	Longitud de raíces	Número de raíces
	(mg L ⁻¹)		(cm) *M ± E.E.	*M ± E.E.	(cm) *M ± E.E.	*M ± E.E.
T1Y1	0	Apical	7.36±0.75 b	4.20±0.62 b	3.03±0.29 cd	6.05±0.57 de
T2Y1	0.25	Apical	8.52±0.44 b	5.20±0.16 a	4.57±0.34 bc	9.30±0.79 bc
T3Y1	0.5	Apical	8.82±0.33 ab	4.20±0.22 b	4.52±0.59 bc	6.60±0.24 de
T4Y1	0.75	Apical	10.5±0.5 a	5.05±0.45 ab	5.58±0.60 b	10.95±1.12 ab
T5Y1	1	Apical	8.41±0.41 b	4.35±0.22 ab	5.64±0.36 b	11.80±0.70 a
T1Y2	0	Axilar	3.95±0.42 d	1.75±0.26 c	1.99±0.46 d	3.95±0.53 f
T2Y2	0.25	Axilar	4.95±0.35 cd	1.70±0.29 c	4.43±0.40 bc	5.50±0.79 ef
T3Y2	0.5	Axilar	5.84±0.68 c	2.35±0.25 c	4.96±0.53 b	6.30±0.51 de
T4Y2	0.75	Axilar	7.53±0.22 b	2.50±1.10 c	7.55±0.60 a	7.90±0.37 cd
T5Y2	1	Axilar	8.53±0.44 b	2.65±0.15 c	6.10±0.94 b	7.15±0.51 de

Medias con una letra común en cada columna no son significativamente diferentes (Pr < 0.05).

* Variantes de los tratamientos T1...T5, Y1 (Yema apical) Y2 (Yema axilar)

** Medias ± Error Estándar

La siembra de yemas axilares en el sustrato con 0.75 mg L⁻¹ de IBA presentó una media de longitud de raíces estadísticamente superior a todas las medias obtenidas con la siembra de yemas apicales. En longitud de raíces únicamente se presentaron medias con igual categoría estadística con la siembra de yemas axilares en los sustratos enriquecidos con 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de IBA con medias respectivas de 7.55 y 6.10 cm. Con 1.00 mg L⁻¹ de IBA la media de longitud de raíces superó significativamente a las medias registradas en los sustratos que no se les adicionó IBA tanto con yemas apicales como con yemas axilares, pero se presentó igual comportamiento estadístico con las medias obtenidas con las siembra de yemas apicales cuando a los sustratos se les agregó IBA y con yemas axilares en los sustratos que contenían 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de IBA. Ver resultados en el cuadro 9.

En el cultivar Pampeana la siembra de yemas apicales en el sustrato que se le agregó 0.75 mg L^{-1} de IBA presentó mejor respuesta estadística en las medias registradas en las variables longitud de planta, número de yemas y número de raíces. Con la siembra de yemas axilares en los sustratos que contenían con 0.75 y 1.00 mg L^{-1} de IBA se presentaron los mejores valores estadísticos de las medias en las variables longitud de planta, número de yemas, número de raíces y la longitud de raíces. Por tanto en el cultivar Pampeana cuando se siembren yemas apicales como axilares se puede adicionar al sustrato una concentración de 0.75 mg L^{-1} de IBA. La diferencia en la respuesta al crecimiento de acuerdo a las variables evaluadas en los dos cultivares evaluados, evidencia que existen diferencias genotípicas entre ellos y que el cultivar Karú es más sensible a menores concentraciones de IBA.



Foto 10: Izquierda: plántulas desarrolladas a partir de yema apical. Derecha: Plántulas desarrolladas a partir de yema axilar de los cultivares Karú y Pampeana.

V. CONCLUSIONES

En el cultivar Karú en la multiplicación por microesquejes no es necesario agregar reguladores del crecimiento al medio de cultivo. Mientras en el cultivar Pampeana el medio de cultivo que resultó adecuado es el que contiene las sales MS en concentraciones de $0.20 \text{ mg L}^{-1} \text{ GA}^3$ y 1.00 mg L^{-1} de BAP.

Adiciones de sacarosa a los medios de cultivo entre los 70 y 80 g L^{-1} favorecen la producción de microtubérculos en el cultivar Karú de acuerdo a la respuesta estadística en las variables peso, diámetro, la longitud de microtubérculos y número de microtubérculos por planta. Mientras que en el cultivar Pampeana en esas mismas variables se presentó mejor respuesta estadística en los medios de cultivo que se adicionó 60, 70 y 80 g L^{-1} de sacarosa.

En el cultivar Karú la propagación a partir de yemas apicales extraídos de microtubérculos germinados con adición al sustrato de 0.75 mg L^{-1} de IBA resultó mejor para la formación de plantas. Con la siembra de yemas axilares en el sustrato con 0.50 mg L^{-1} de IBA se obtuvo mejor respuesta estadística en las variables longitud de plantas y longitud de raíces. En el cultivar Pampeana para la siembra tanto de yemas apicales como axilares resultó mejor para la formación de plantas agregar al sustrato una concentración de 0.75 mg L^{-1} de IBA.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar ensayos con el propósito de evaluar diferentes frecuencias y tiempos de inmersión en los BEIT con la instalación de un sistema automatizado.

Reemplazar el medio de cultivo a las dos semanas para renovar el efecto inductivo de la sacarosa en la microtuberización y de esta forma retrasar el proceso de hidrólisis.

Valorar los rendimientos y comportamiento ante plagas y enfermedades de los microtubérculos del cultivar Karú en siembra directa en campo.

VII. LITERATURA CITADA

Aguilar, M. y Cruz. R. 2013. Empresa de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) de alta calidad genética y fitosanitaria para mejorar el nivel de vida y la actividad económica y productiva de agricultores de los departamentos de Estelí, Matagalpa y Jinotega. Proyecto de Innovación "Empresa de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.)". Pp. 4-9. Managua, Nicaragua.

Acuña, I.; Muñoz, M.; Sandaña, P.; Orena, S.; Bravo, R.; Kalazich, J.; Tejeda, P.; Castro M.P. y C. Sandoval. 2015. Manual Interactivo de la papa INIA. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Chile. <http://manualinia.papachile.cl>

Arellano, M.; Villavicencio G.; y García, S. 2010. Producción de plántulas y semilla prebásica de cultivares comerciales de papa libres de enfermedades. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

Centro de Investigación de Hidroponía y nutrición mineral, Universidad Nacional Agraria, La Molina (en línea) Consultado de Marzo 2010. Disponible en <http://www.lamolina.edu.pe/hidroponia/>

Désiré *et al.*, 1995 y Rosell, 1987; citados por Yu *et al.* (2000). En Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors. *Plant Cell Rep.*, 19: 407-413.

El Portal de la papa en argentina (en línea), consultado el 18 abril 2017. Disponible en <https://www.argenpapa.com.ar/info/la-papa/>

Empresa de investigación y transferencia de tecnología en propagación de plantas y producción de semillas. (en línea) consultado en marzo del 2010. Disponible en <http://www.esp.sahtecno.com>.

Espinoza, N, Estrada P, Tovar P, Bryan P y Dodds J (1992) Tissue culture micropropagation, conservation and export of potato germoplasm. Especialized Technology Document 1, CIP, Lima.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación). 2008. El mundo de la Papa. (en línea) FAOSTAT. Consultado el 25 de marzo 2015. Disponible en <http://www.fao.org/potato-2008/es/mundo/>.

Gopal, J; Minocha J.L.; Dhaliwal H.S. 1998. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Cell Rep. pp. 17:794–798.

Igarza, J.; Agramonte, D.; De Feria, M.; Jaime J.; y Pérez, M. 2011. Obtención de micro tubérculos de papa cv. "Andinita" en sistemas de Inmersión Temporal. pp. 1: 59-62. Biotecnología Vegetal.

Jackson, S.D y Prat S. 1996 Control of tuberisation in potato by gibberellins and phytochrome B. *Physiol Plant* 98: 407-412.

Jaramillo, S., A; Rivera G., M. de J.; Montañó R., H.; Lozano G., y J. J. 2012.

Microtuberization *in vitro* of four potato varieties. (*Solanum tuberosum* L). Consultado el 4 de Enero de 2016. Disponible en <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/ecologia/microtuber.pdf>.

Jiménez, E. 1999. Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) en sistema de inmersión temporal. Universidad de Ciego de Ávila, Cuba. Consultado el 3 de Diciembre de 2015.

Khuri, S. y Moorby, J. 1995. Investigations the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production in vitro. *Ann. Bot.*, 75: 295-303.

Leclerc, Y.; D. Dolmelly; y J.E.A. Seabrook. 1994. Microtuberization of layered shoots and nodal cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell Tiss Org Cult.* pp. 37:113-120.

Molina, J. D.; Mairena S., B.; Aguilar B., L. 2004. Guía MIP en el cultivo de la papa. Cenida. Disponible en <http://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10M722.pdf>.

Moreno P. y M. C. 2012. Efecto de la Composición del Medio de Cultivo y del Fotoperiodo sobre la Producción de Microtubérculos de Papa (*Solanum tuberosum* L.). Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Escuela de Biología. Caracas, Venezuela. Disponible en <http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/8159/1/Tesis%20Mayel%C3%AD%20Carolina%20Moreno.pdf>.

Muñoz, G. D. 1996. Propagación *in vitro* y microtuberización de cultivares de *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* Hawkes en medios líquidos. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. Valdivia.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.

Nistor A, Campeanu G, Atanasiu N, Chiru N, Karácsonyi D (2010). Influence of genotype on microtuber production. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 38(1):209-21.

Orbe V., K. 2014. Estación Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Biotecnología. Quito, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/549/1/iniapscIABIOTECNOLOGIA2014.pdf>.

Oropeza, M. P. 2012. Efecto de la composición del medio del cultivo y del fotoperiodo sobre la producción de microtubérculos de papa *Solanum tuberosum*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias.

Ortiz Zelaya, Mirna Indiana y Zeledón Rodríguez, Johnston Erizaet (2016) Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar Burren en biorreactores económicos de inmersión temporal. Ingeniería tesis, Universidad Nacional Agraria.

Perdomo D, Dinara & Paez de Caseres, Josefina. (2018). Inducción de tubérculos *in vitro* para la caracterización y conservación de algunas cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Pérez, J. y Rodríguez C. (1989) Producción de semillas y propágulos. Editorial Pueblo y Educación. p. 220.

Pérez, N. M.; Restrepo, D. C.; García, J. D.; y Giraldo, D. R. 2008. Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar Diacol Capiro, en biorreactores de inmersión temporal y evaluación de su comportamiento en campo. Universidad Católica de Oriente, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Maracaibo, Venezuela.

Piedra B., M. A. 2014. Evaluación de la micro tuberización de los cultivares de papa INIAP-victoria y Superchola, bajo sistemas de inmersión temporal. Universidad Central de Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito, Ecuador. Disponible en <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2490/1/T-UCE-0004-68.pdf>.

Pruski, K, Astatkie T, Duplessis P, Stewart L, Nowak J and Struik PC. 2003 Manipulation of microtubers for directed utilization in seed production. Am. J. Potato Res. 80: 173-181

Rivera, Á. L, Valbuena, R. I, Hidalgo, R., y Moreno, J.D. 2008. Microtuberización *in vitro* de siete accesiones de papa de la colección central colombiana. En: Acta Agron. v.57 no.3 Palmira Colombia. 175-180.

Sánchez y Rocha. 2015. Producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), cultivar Servane en Biorreactores económicos de inmersión temporal. Managua, Nicaragua. NIC. Pág. 58.

Srivastava, A. K.; Diengdoh, L. C.; Rai, R.; Bag T. K. P. y Singh B. 2012. *In vitro* Micropropagation and Microtuberization Potential of Selected Potato Varieties. Indian Journal of Hill Farming 25(2):14-17.

Teisson, C. y D. Alvarad, 1997. Técnicas de Avanzada aplicadas a la propagación masiva de plantas. BIOVEG 1997, Libro de Resúmenes. Pp. 25 – 26.

Veramendi, J.; Willmitzer, L.; y Trethewey, R.N. 1999. In vitro grown potato microtubers are a suitable system for the study of primary carbohydrate metabolism. Plant Physiol Biochem, 37: 693-697.

Wazir. A, Gul. Z, Hussain. M, Ullah Khan. Z, Saleem. M y Khurshid.I.2015. Effect of sucrose on inducing in vitro microtuberización in potato without using any growth hormone Pakistan ed. Research Paper. Pág.119-122

Yu, W.C.; Joyce, P.J.; Cameron, D.C.; y McCown, B.H. 2000. Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors. Plant Cell Rep., 19: 407-413.