

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS**

**EVALUACION DEL EFECTO DE MEDIOS DE CULTIVO, INTENSIDADES LUMINICAS  
DE INCUBACIÓN Y EDADES DE SIEMBRA EN EL CULTIVO *in vitro* DE PAPA  
(*Solanum tuberosum* L.)**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**WALTER NOE MUS COY**

**En el acto de su investidura como**

**INGENIERO AGRONOMO**

**EN**

**SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA  
EN EL GRADO ACADEMICO DE  
LICENCIADO**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 1999.**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**RECTOR**

**Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA**

**DECANO  
VOCAL PRIMERO  
VOCAL SEGUNDO  
VOCAL TERCERO  
VOCAL CUARTO  
VOCAL QUINTO  
SECRETARIO**

**Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello  
Ing. Agr. William Roberto Escobar López  
Ing. Agr. Alejandro Arnaldo Hernández Figueroa  
Prof. Jacobo Bolvito Ramos  
Br. José Domingo Mendoza Cipriano  
Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada**

Guatemala, Octubre de 1999

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Distinguidos miembros:

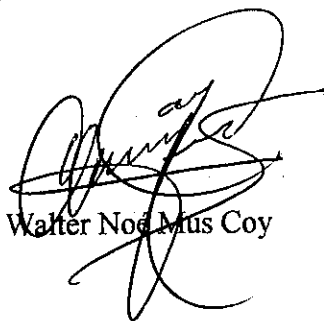
De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**EVALUACION DEL EFECTO DE MEDIOS DE CULTIVO, INTENSIDADES LUMINICAS  
DE INCUBACION Y EDADES DE SIEMBRA EN EL CULTIVO *in vitro*  
DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)**

Presentado como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que la presente investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo de ustedes.

Atentamente,



Walter Noé Mus Coy

## ACTO QUE DEDICO

A:

- DIOS** Creador de la vida, que me dio el conocimiento y las herramientas necesarias para poder alcanzar mis metas.
- MIS PADRES** Oswaldo Mus Yat  
Maria Elena Coy de Mus  
Como una muestra de agradecimiento a sus esfuerzos y sacrificios.
- MIS HERMANOS** Gloria Estela, Erick Oswaldo, Mirian Aracely y Astrid Elena  
Como una muestra de afecto al cariño sincero.
- MIS SOBRINAS** Helen Estelvia, Ana Gaddy, Miriant Maria  
Con gran cariño.
- MIS ABUELOS** Felipe Coy (+), Elena Chun (+)  
Diego Mus (+), Feliza Yat.
- ALBA PEREZ** Portadora de mí reflejo.
- MI FAMILIA EN GENERAL** Respetuosamente.
- MIS AMIGOS** Carlos Navarro, Angel Reyes, Ricardo Calderon, Juan Molina, Salvador Corado, Ivan Pivaral, Miguel López, Pablo Prado, Francisco Barneond, Juan P. Mus, Luis Galvez, Dorian Izaguirre, Erick Bolaños, Fernando Granados, Luis Mendoza, Edwin Hernández, Maucelio Merida, Oscar Lima, Julio Rodriguez, Carlos Narciso, Elizondo Godoy.  
  
Como recuerdo de las experiencias compartidas y muestra de amistad.

**TESIS QUE DEDICO**

**A:**

**GUATEMALA**

**SAN CRISTOBAL ALTA VERAPAZ**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**

**INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS**

**ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS COMERCIALES COBAN ALTA VERAPAZ**

**INSTITUTO MIXTO DE EDUCACION BASICA, SAN CRISTOBAL VERAPAZ**

**ESCUELA OFICIAL PARA VARONES, SAN CRISTOBAL VERAPAZ**

**TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON A MI FORMACION.**

## AGRADECIMIENTOS

A:

MIS ASESORES

Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
Ing. Agr. Héctor Alfredo Sagastume Mena.

Por su valioso aporte, en la orientación de la investigación, y a sus desvelos en la entrega del presente trabajo.

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA DEL INSTITUTO DE CIENCIA Y  
TECNOLOGIA AGRICOLAS

Por el apoyo y recursos invertidos en la realización de la investigación.

EL PERSONAL TECNICO Y ADMINISTRATIVO DEL LABORATORIO DE  
BIOTECNOLOGIA DEL INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS.

Otto Osorio, Dario Fuentes, Isidro Chen, Juan Toj, Clara Vasquez, Ing. Héctor Sagastume, Ing. Luis Molina, Ing. Nubuhisa Suzuki.

Por la muestra de compañerismo.

## CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	x
INDICE DE FIGURAS.....	xiii
ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xviii
1. INTRODUCCION.....	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA.....	2
3. MARCO TEORICO.....	3
3.1 Marco Conceptual.....	3
3.1.1 Cultivo de tejidos vegetales.....	3
3.1.1.1 Ventajas del cultivo de tejidos.....	3
3.1.2 Explante.....	4
3.1.3 Asepsia.....	5
3.1.4 Medios de cultivo.....	5
3.1.4.1 Sales inorgánicas.....	5
3.1.4.2 Vitaminas.....	6
3.1.4.3 Reguladores del crecimiento.....	7
3.1.4.4 Interacción de reguladores de crecimiento.....	8
3.1.4.5 Aminoácidos.....	9
3.1.4.6 Carbohidratos.....	9
3.1.4.7 Agua.....	9
3.1.4.8 Agentes solidificantes.....	10
3.1.4.9 Suplementos no definidos.....	10
3.1.5 Factores físicos del ambiente en los cultivos.....	11
3.1.5.1 Necesidades de luz.....	11
3.1.5.2 Influencia de la luz en el cultivo de tejidos.....	13
3.1.5.3 Requerimientos de luz de las plantas.....	14
3.1.5.4 Influencia de la temperatura.....	15
3.1.6 Concepto de micropropagación.....	15
3.1.6.1 Concepto de clon.....	15
3.1.6.2 Fines del cultivo de tejidos vegetales.....	16
3.1.6.3 Ventajas de la micropropagación masiva.....	16
3.1.6.4 Pasos en la Micropropagación.....	17
3.1.6.5 Factores que Influyen en la Micropropagación.....	18
3.1.7 Descripción del cultivo de la papa.....	20
3.1.7.1 Clasificación botánica.....	20
3.1.7.2 Organografía de la planta.....	20
3.1.7.3 Origen.....	21
3.1.7.4 Composición química.....	22
3.1.7.5 Importancia.....	23
3.2 Marco referencial.....	23
3.2.1 Características de los materiales experimentales.....	23
3.2.1.1 Clones de papa.....	23
3.2.1.2 Medios de cultivo.....	25
3.2.2 Estudios realizados de micropropagación de papa.....	29
3.2.2.1 Estabilización del protocolo de micropropagación para tres clones de papa.....	29

	3.2.2.2	Evaluación del efecto de la reducción de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ e incremento de $\text{KNO}_3$ en los medio de Okabe para la micropropagación de papa.....	30
	3.2.2.3	Estabilización del protocolo de microtuberización para tres clones de papa.....	31
	3.2.2.4	Producción de plantas de papa libres de los virus X, Y y S por medio del cultivo de meristemos.....	32
4.		OBJETIVOS.....	33
5.		HIPOTESIS.....	34
6.		METODOLOGIA.....	35
	6.1	Localización del experimento.....	35
	6.2	Manejo del experimento.....	35
	6.2.1	Preparación del medio basal (MB).....	35
	6.2.2	Preparación de medios de cultivo.....	35
	6.2.3	Selección del material.....	35
	6.2.3.1	Aleatorización.....	35
	6.2.3.2	Siembra.....	36
	6.2.3.3	Medición de temperatura.....	36
	6.2.3.4	Condiciones ambientales de incubación.....	36
	6.2.4	Medición de la variable de respuesta.....	36
	6.2.4.1	Peso fresco de tallo y raíces.....	36
	6.2.4.2	Altura de la planta.....	37
	6.2.4.3	Número de entrenudos.....	37
	6.2.4.4	Longitud de entrenudos.....	37
	6.2.4.5	Número de raíces.....	37
	6.2.4.6	Longitud de raíces.....	37
	6.2.5	Diseño experimental.....	38
	6.2.6	Factores y niveles.....	38
	6.2.6.1	Medios de cultivo.....	38
	6.2.6.2	Intensidades lumínicas.....	38
	6.2.6.3	Edades de siembra.....	38
	6.2.7	Modelo estadístico.....	39
	6.2.8	Unidad experimental.....	39
	6.2.9	Tratamientos.....	39
	6.3	Análisis de la información.....	42
7.		RESULTADOS Y DISCUSION.....	43
	7.1	Clon Ictafrit.....	43
	7.1.1	Altura de planta.....	43
	7.1.2	Número de entrenudos.....	46
	7.1.3	Longitud de entrenudos.....	50
	7.1.4	Peso fresco de tallo.....	53
	7.1.5	Peso fresco de raíces.....	56
	7.1.6	Número de raíces.....	61
	7.1.7	Longitud de raíces.....	64
	7.2	Clon Loman.....	66
	7.2.1	Altura de planta.....	66
	7.2.2	Número de entrenudos.....	69
	7.2.3	Longitud de entrenudos.....	72



7.2.4	Peso fresco de tallo.....	74
7.2.5	Peso fresco de raíces.....	77
7.2.6	Número de raíces.....	81
7.2.7	Longitud de raíces.....	84
8.	CONCLUSIONES.....	88
9.	RECOMENDACIONES.....	89
10.	BIBLIOGRAFIA.....	90
11.	APENDICE.....	93



11

### INDICE DE CUADROS

CUADRO 1	Interacción de reguladores de crecimiento.	9
CUADRO 2	Serie de medios de cultivo para micropropagación de papa.	30
CUADRO 3	Serie de medios de cultivo para microtuberización de papa.	31
CUADRO 4	Combinación de los diferentes niveles de cada factor, que forma un tratamiento.	40
CUADRO 5	Composición química de cada medio de cultivo.	41
CUADRO 6	Análisis de varianza de la variable altura de planta del <b>clon Ictafrit.</b>	43
CUADRO 7	Prueba de Duncan para la variable altura de planta del <b>clon Ictafrit.</b>	44
CUADRO 8	Prueba de Duncan para la variable altura de planta del <b>clon Ictafrit.</b>	45
CUADRO 9	Análisis de varianza de la variable número de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	47
CUADRO 10	Prueba de Duncan para la variable número de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	47
CUADRO 11	Prueba de Duncan para la variable número de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	48
CUADRO 12	Análisis de varianza de la variable longitud de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	50
CUADRO 13	Prueba de Duncan para longitud media de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	51
CUADRO 14	Prueba de Duncan para la variable longitud de entrenudos del <b>clon Ictafrit.</b>	52
CUADRO 15	Análisis de varianza de la variable peso fresco de tallo del <b>clon Ictafrit.</b>	53
CUADRO 16	Prueba de Duncan para la variable Peso fresco de tallo del <b>clon Ictafrit.</b>	54
CUADRO 17	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de tallo del <b>clon Ictafrit.</b>	55
CUADRO 18	Análisis de varianza de la variable peso fresco de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	56
CUADRO 19	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	57
CUADRO 20	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de raíces de <b>clon Ictafrit.</b>	58
CUADRO 21	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	60



CUADRO 22	Análisis de varianza de la variable número de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	61
CUADRO 23	Prueba de Duncan para la variable número de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	62
CUADRO 24	Prueba de Duncan para la variable número de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	63
CUADRO 25	Análisis de varianza de la variable longitud de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	65
CUADRO 26	Prueba de Duncan para la variable media de raíces del <b>clon Ictafrit.</b>	65
CUADRO 27	Análisis de varianza de la variable altura de planta del <b>clon Loman.</b>	67
CUADRO 28	Prueba de Duncan para la variable altura de planta del <b>clon Loman.</b>	68
CUADRO 29	Análisis de varianza de la variable número de entrenudos del <b>clon Loman.</b>	70
CUADRO 30	Prueba de Duncan para la variable número de entrenudos del <b>clon Loman.</b>	71
CUADRO 31	Análisis de varianza de la variable longitud de entrenudos del <b>clon Loman.</b>	73
CUADRO 32	Prueba de Duncan para la variable longitud de entrenudos del <b>clon Loman.</b>	73
CUADRO 33	Análisis de varianza de la variable peso fresco de tallo del <b>clon loman.</b>	75
CUADRO 34	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de tallo del <b>clon Loman.</b>	75
CUADRO 35	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de tallo del <b>clon Loman.</b>	76
CUADRO 36	Análisis de varianza de la variable peso fresco de raíces del <b>clon Loman.</b>	78
CUADRO 37	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de raíces del <b>clon Loman.</b>	78
CUADRO 38	Prueba de Duncan para la variable peso fresco de raíces del <b>clon Loman.</b>	80
CUADRO 39	Análisis de varianza de la variable número de raíces del <b>clon Loman.</b>	82
CUADRO 40	Prueba de Duncan para la variable número de raíces del <b>clon Loman.</b>	83
CUADRO 41	Análisis de varianza de la variable longitud de raíces del <b>clon Loman.</b>	85
CUADRO 42	Prueba de Duncan para la variable longitud de raíces del <b>clon loman.</b>	86
CUADRO 43A	Temperatura en las camas de crecimiento a una intensidad lumínica de 1000 lux.	94
CUADRO 44A	Temperatura en las camas de crecimiento a una intensidad lumínica de 3000 lux.	95
CUADRO 45A	Tabla para determinar peso específico, porcentaje de materia seca, porcentaje de almidón y calidad culinaria por medio de densidades conocidas.	96

CUADRO 46A	Datos originales del experimento de la repetición 1 y 2 del clon Ictafrit.	101
CUADRO 47A	Datos originales del experimento de la repetición 3 y 4 del clon Ictafrit.	102
CUADRO 48A	Datos originales del experimento de la repetición 5 y 6 del clon Ictafrit.	103
CUADRO 49A	Datos originales del experimento de la repetición 7 y 8 del clon Ictafrit.	104
CUADRO 50A	Datos originales del experimento de la repetición 9 y 10 del clon Ictafrit.	105
CUADRO 51A	Datos originales del experimento de la repetición 1 y 2 del clon Loman.	106
CUADRO 52A	Datos originales del experimento de la repetición 3 y 4 del clon Loman.	107
CUADRO 53A	Datos originales del experimento de la repetición 5 y 6 del clon Loman.	108
CUADRO 54A	Datos originales del experimento de la repetición 7 y 8 del clon Loman.	109
CUADRO 55A	Datos originales del experimento de la repetición 9 y 10 del clon Loman.	110

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Biosíntesis de los ácidos giberélicos.	28
FIGURA 2	Altura de planta para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	45
FIGURA 3	Altura de planta para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.	46
FIGURA 4	Número de entrenudos por planta según intensidad lumínica de incubación para el clon Ictafrit.	48
FIGURA 5	Número de entrenudos por planta para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	49
FIGURA 6	Longitud de entrenudos según intensidad lumínica de incubación para el clon Ictafrit.	51
FIGURA 7	Longitud de entrenudos para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	53
FIGURA 8	Comportamiento del peso fresco de tallo del clon ictafrit, según la luminosidad.	54
FIGURA 9	Peso fresco de tallo para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	56
FIGURA 10	Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	58
FIGURA 11	Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.	59
FIGURA 12	Peso fresco de raíces para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.	60
FIGURA 13	Comportamiento del número de raíces del clon ictafrit, según intensidad lumínica.	62
FIGURA 14	Número de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.	64
FIGURA 15	Longitud de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo del clon Ictafrit.	66
FIGURA 16	Altura de planta para la edad de siembra 1 con el clon Loman.	69
FIGURA 17	Altura de planta para la edad de siembra 2 con el clon Loman.	69

FIGURA 18	Número de entrenudos para la edad de siembra 1 con el clon Loman.	72
FIGURA 19	Número de entrenudos para la edad de siembra 2 con el clon Loman.	72
FIGURA 20	Longitud de entrenudos para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Loman.	74
FIGURA 21	Peso fresco de tallo del clon Loman según la intensidad lumínica de incubación.	76
FIGURA 22	Peso fresco de tallo para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Loman.	77
FIGURA 23	Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo del clon Loman.	79
FIGURA 24	Peso fresco de raíces para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación con el clon Loman.	81
FIGURA 25	Número de raíces para la edad de siembra 1 con el clon Loman.	84
FIGURA 26	Número de raíces para la edad de siembra 2 con el clon Loman.	84
FIGURA 27	Longitud de raíces para la edad de siembra 1 con el clon Loman.	87
FIGURA 28	Longitud de raíces para la edad de siembra 2 con el clon Loman.	87



## ABREVIATURAS

AC	Agua de coco
AG	Ácido giberélico
AIA	Ácido indolacético
AIB	Ácido indolbutírico
ANA	Ácido naftalenacético
AP1	Fórmula de vitaminas de Ken Okabe
AP2	Fórmula de vitaminas de Ken Okabe
ARN	Ácido ribonucleico
BAP	Bencilaminopurina
Bo	Boro
B5	Medio de cultivo de Gamborg et al. (1968)
Ca	Calcio
CCC	Cloruro de clorocolina
CH	Caseína hidrolizada
CIP	Centro Internacional de la Papa
CL	Medio de cultivo C del CIP en estado líquido
cm	Centímetro
CS	Medio de cultivo C del CIP en estado semisólido
Cu	Cobre
C.V.	Coefficiente de variación
DD	Desmineralizada-destilada
DFFF	Densidad Flujo Fotón Fotosintético
DL	Medio de cultivo D del CIP en estado líquido
DS	Medio de cultivo D del CIP en estado semisólido
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
Fe	Hierro

FFF	Flujo Fotón Fotosintético
Ha	Hectárea
HCl	Ácido clorhídrico
ICTA	Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas
IL	Medio de cultivo I del CIP en estado líquido
IS	Medio de cultivo I del CIP en estado semisólido
K	Potasio
KO	Medio de cultivo de Ken Okabe (1995)
lx	Lux
MB	Medio basal
Mg	Magnesio
mg/l	Miligramos por litro
mm	Milímetros
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
MS	Medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962)
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetro
NN	Medio de cultivo de Nitch y Nitch (1967)
P	Fósforo
PCA	Ácido paraclorofenoxiacético
PLRV	Potato Leaf Roll Virus (virus del enrollamiento de la hoja de la papa)
ppm	Partes por millon
PVX	Potato Virus X (virus X de la papa)
PVY	Potato Virus Y (virus Y de la papa)
P2	Medio de cultivo PAPA 2 desarrollado por Ken Okabe
P7	Medio de cultivo PAPA 7 desarrollado por Ken Okabe
RAF	Radiación activa fotosintética

ton/ha	Toneladas por hectárea
U.V.	Ultravioleta
v/v	volumen sobre volumen.
W	Watt
W m <sup>-2</sup>	Watts por metro cuadrado
Zn	Zinc
%	Por ciento
2,4-D	Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético



**EVALUACION DEL EFECTO DE MEDIOS DE CULTIVO, INTENSIDADES LUMINICAS DE INCUBACION Y EDADES DE SIEMBRA EN EL CULTIVO *in vitro* DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)**

**EVALUATION OF THE CULTURE MEDIUM, LUMINOUS INTENSITY AND PLANTING TO AGE EFFECT, IN THE *in vitro* CULTURE OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.)**

**RESUMEN**

En Guatemala los principales departamentos productores de papa son: Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Totonicapán, Sololá y Quiché, en el Altiplano Occidental; Chimaltenango y Guatemala, en el Altiplano Central; la montaña de Jalapa, en la parte Oriental; Alta y Baja Verapaz, en el Norte de la República. Se cultiva en mayor porcentaje el clon Loman, que tiene las siguientes características: rendimiento de 15 a 20 ton/ha, susceptible al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) y susceptible a heladas. El clon Ictafrit posee cualidades superiores a nivel experimental como: rendimiento de 25 a 30 ton/ha, resistencia al tizón tardío, tolerante a heladas y buena calidad para fritura, debido a la mayor cantidad de sólidos totales (almidón) y menor contenido de azúcares.

La papa actualmente es sembrada en estas áreas, pero lamentablemente los rendimientos del cultivo por unidad de área son bajos comparados con los obtenidos en las estaciones experimentales, donde se evalúan semillas libres de virus, limpias por cultivo de tejidos vegetales de los clones antes mencionados. La disminución en el rendimiento de la producción de papa se le atribuye a la utilización de semillas de cosechas anteriores que han ido acumulando concentraciones de virus, principalmente el virus X (PVX), virus Y (PVY) y el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV); y al transporte de semillas infestadas por bacterias y nemátodos de un lugar a otro. Lo anterior provoca que cada año el rendimiento sea menor; la única solución al problema es producir semilla libre de virus a partir del cultivo de tejidos, por tal motivo fue necesario establecer los protocolos más adecuados de micropropagación para cada clon de papa.

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) y tuvo como objetivo evaluar el efecto de nueve medios de cultivo, dos intensidades lumínicas de incubación y dos edades de siembra sobre el crecimiento *in vitro* de los clones Ictafrit y Loman.

Para lo cual se realizó un experimento utilizando un diseño de bloques al azar factorial para cada uno de los clones, con treintiséis tratamientos y diez repeticiones dando un total de 360 unidades experimentales por clon; debido a que fue necesario establecer la consistencia de los resultados, se sembraron los materiales en las mismas condiciones, lo que constituyó la edad de siembra 2. Las variables de respuesta fueron: altura de planta, número de entrenudos, longitud de entrenudos, peso fresco de tallo y raíces, número de raíces y longitud de raíces.

El clon Ictafrit presentó una mayor respuesta en las variables altura de planta, número de entrenudos y peso fresco de tallo con el medio de cultivo C del CIP, en estado semisólido, con una intensidad lumínica de incubación de 3,000 lux. El clon Loman presentó una mayor respuesta en las variables número de entrenudos y longitud de entrenudos con el medio de cultivo D del CIP, en estado semisólido, con una intensidad lumínica de incubación de 3,000 lux. El medio de cultivo C del CIP, en estado semisólido, con una intensidad lumínica de incubación de 3,000 lux induce un mayor peso fresco de tallo en el clon Loman. En los clones Ictafrit y Loman se obtuvo una mayor respuesta en las variables peso fresco de raíces y número de raíces con el medio de cultivo P7, desarrollado por Okabe, con una intensidad lumínica de incubación de 3,000 lux. El medio de cultivo MS, de Murashige y Skoog, con una intensidad lumínica de incubación de 3,000 lux induce una mayor longitud de raíces en los clones Ictafrit y Loman.

## I. INTRODUCCION

La papa (*Solanum tuberosum* L.) ocupa el cuarto lugar en importancia y producción alimenticia a nivel mundial, superado únicamente por los cultivos de trigo, arroz y maíz. Se encuentra cultivado en un 79% de los países del mundo (11,22).

El cultivo de la papa en Guatemala está principalmente en manos de pequeños agricultores. El área aproximada de siembra es de 14,000 ha, el área dedicada al cultivo se ha incrementado entre 30 y 40 por ciento en los últimos años, debido a que no se han producido recientemente grandes fluctuaciones en los precios. La producción nacional es de aproximadamente 140,000 toneladas anuales. Con dicha producción se cubren los mercados de Centroamérica y Sur de México. Se exportan de 7,000 a 9,000 toneladas al año (3).

La presente investigación evaluó el efecto de nueve medios de cultivo: los medios C,D, e I, en estado semisólido y líquido, del Centro Internacional de la Papa (CIP); medio Murashige y Skoog (1962), medio P7 y P2 desarrollados por el Ing. Ken Okabe, este último fue el testigo. Además se evaluaron dos intensidades lumínicas de incubación (1000 y 3000 lux), y dos edades de siembra en los clones Ictafrit y Loman sobre la parte vegetativa (altura de planta, número de entrenudos, longitud de entrenudos y peso fresco de tallo) y radicular de la planta (peso fresco de raíces, número de raíces y longitud de raíces). Al respecto se recomiendan medios de cultivo para la fase de multiplicación y para la fase de enraizamiento y su preparación para el trasplante.

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), con la finalidad de mejorar los protocolos de micropropagación de papa para, posteriormente, abastecer de semillas libres de virus, bacterias y nemátodos, y de buena calidad, a los agricultores del país. En la investigación se utilizó el diseño de bloques al azar con arreglo factorial de 36 tratamientos y con 10 repeticiones cada uno.

## 2. DEFINICION DEL PROBLEMA

Los principales departamentos productores de papa en Guatemala son: Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Totonicapán, Sololá y Quiché, en el Altiplano Occidental; Chimaltenango y Guatemala, en el Altiplano Central; la montaña de Jalapa, en la parte Oriental; Alta y Baja Verapaz, en el Norte de la república. Los primeros tres departamentos son los que más producen a nivel nacional (3). Se cultiva en mayor porcentaje el clon Loman, que tiene las siguientes características: rendimiento de 15 a 20 ton/ha, susceptible al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) y susceptible a heladas. El clon Ictafrit posee cualidades superiores a nivel experimental como: rendimiento de 25 a 30 ton/ha, resistencia al tizón tardío, tolerante a heladas y buena calidad para fritura debido a la mayor cantidad de sólidos totales (almidón) y menor contenido de azúcares (9,16).

La papa actualmente es sembrada en estas áreas, pero lamentablemente los rendimientos del cultivo por unidad de área son bajos comparados con los obtenidos en las estaciones experimentales, donde se evalúan semillas limpias por cultivo de tejidos de los clones antes mencionados.

La disminución en el rendimiento de la producción de papa, se le atribuye a la utilización de semillas de cosechas anteriores, que han ido acumulando en la semilla concentraciones de virus, principalmente el virus X (PVX), virus Y (PVY), y el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV) (32); y al transporte de semillas infestadas por bacterias (*Xanthomonas* sp) y nemátodos de un lugar a otro. Lo anterior provoca que cada año el rendimiento sea menor. La única solución al problema es producir semilla "limpia" a partir del cultivo de tejidos. En los laboratorios de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) se propagan los clones Ictafrit y Loman utilizando el medio de cultivo P2 desarrollado por el Ing. Ken Okabe, con una intensidad lumínica de incubación de 1000 lux, pero se desconoce si éste medio de cultivo y la intensidad lumínica de incubación son los más adecuados para la propagación *in vitro* de los clones antes mencionados. Se sabe que no todas las especies o clones responden igual a un mismo medio de cultivo e intensidad lumínica de incubación (19) por tal motivo fue necesario establecer los protocolos más adecuados de micropropagación para cada clon.



### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 MARCO CONCEPTUAL

##### 3.1.1 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

La técnica de cultivo de tejidos vegetales se define como: el cultivo de células, tejidos y/u órganos extraídos de plantas, que se mantiene bajo condiciones artificiales y permite reproducir plantas que poseen todas las características de las plantas madre, o sea que esta es una técnica de propagación vegetativa en condiciones artificiales. El cultivo de tejidos *in vitro* fue desarrollado al darle aplicación al fenómeno de la totipotencia, que forma parte de la teoría celular actual. El pionero en este campo fue Alexis Carrel, quien a principios del siglo IX consiguió cultivar células animales *in vitro* (2,24,29).

La totipotencia de una célula está definida como la capacidad de desarrollar a un individuo completo, basado en que toda célula contiene la información genética necesaria para dar origen a un individuo completo. Este término fue acuñado en 1901 por Morgan (2,5,20).

El cultivo de tejidos permite la propagación clonal rápida de un gran número de plántulas en un período breve, y la conservación del germoplasma de papa, bajo condiciones controladas, en espacios pequeños y con poca mano de obra. El buen estado de sanidad de muchos cultivos *in vitro* facilita enormemente el intercambio internacional de germoplasma (4).

##### 3.1.1.1 VENTAJAS DEL CULTIVO DE TEJIDOS

En general estas son las principales ventajas (14,15,24).

Propagación acelerada: es posible, teóricamente, obtener en 9 meses, a partir de una sola planta, 1,953,125 plantas de papa.

Ahorro y ganancia de espacio: en espacio reducido es posible mantener cantidades considerables de clones que servirán como semilla en el campo, por área disponible. Permite hacer uso del área vertical, acumulando varios niveles para el efecto.

- Ausencia de infecciones y factores climáticos adversos: debido a las condiciones asépticas en que se tienen los explantes están libres de contaminantes, por lo que se cuenta con material que tiene la capacidad de someterse a las pruebas más rigurosas de cuarentena.
- Disponibilidad inmediata y permanente del material: permite el acceso oportuno a la micropropagación en épocas en que las condiciones del campo no son las adecuadas.

El Centro Internacional de la Papa (CIP) mantiene una colección de germoplasma de papa de aproximadamente 6000 clones. Esta colección es fuente de diversidad genética aprovechable por fitomejoradores en los programas de papa. La colección en campo está expuesta a una amplia gama de riesgos, como enfermedades infecciosas o condiciones climáticas adversas y su mantenimiento en el campo es costoso. Por eso la colección de germoplasma *in vitro* posee varias ventajas sobre el mantenimiento en el campo, a saber:

- menores costos de mano de obra.
- ausencia de infecciones de campo.
- ausencia de peligros ambientales como granizadas y heladas.
- acceso oportuno a material para micropropagación.
- acceso oportuno a material para eliminación de patógenos.
- disponibilidad permanente de material para exportación.

La transferencia de la colección de germoplasma de papa a condiciones *in vitro* (cultivo de tejidos) ha sido completada y las nuevas entradas son incluidas en la colección en forma rutinaria (4).

### 3.1.2 EXPLANTE

El explante es una parte de un tejido o de un órgano que se aísla del resto de la planta con fines de cultivo. La selección del explante puede hacerse teniendo en cuenta el sistema de propagación de la planta (31).

La elección de un explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos; en primera instancia, dicha elección está determinada por el objetivo perseguido y la especie vegetal

utilizada. En el caso de especies propagadas vegetativamente, los brotes jóvenes y los ápices meristemáticos han sido generalmente la fuente de los explantes (17,31).

### 3.1.3 ASEPSIA

La asociación explante-medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos (bacterias, hongos), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Evitar las contaminaciones con microorganismos es un aspecto básico que se debe tener en cuenta para el éxito, no solamente en el establecimiento de los cultivos sino en su ulterior incubación y manipulación.

Para establecer cultivos asépticos es conveniente o necesario: a) trabajar en ambientes adecuados; b) esterilizar los medios de cultivo; c) desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos; y d) realizar los cultivos respetando ciertas normas de asepsia.

Hay una vasta gama de compuestos químicos que se pueden utilizar como desinfectantes para los explantes, pero en la actualidad es casi generalizado el empleo de etanol (70% v/v) y de hipoclorito de sodio (NaOCl) del 1% al 3% contenido en productos de uso doméstico. Con menor frecuencia se usan el hipoclorito de calcio [ $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , 6% a 12%] y el cloruro de mercurio ( $\text{HgCl}_2$ , 0.1% a 1.5%), aunque hay que recalcar que este compuesto es altamente tóxico y que no es fácilmente removible del explante (17).

### 3.1.4 MEDIOS DE CULTIVO

Una vez definido el objetivo perseguido con el cultivo *in vitro* de un determinado explante, es necesario elegir un medio apropiado de cultivo. En general los medios de cultivo se encuentran constituidos por los siguientes componentes (5,17):

#### 3.1.4.1 Sales inorgánicas

**A. Macronutrientes:** los tejidos en cultivo requieren de una fuente continua de compuestos inorgánicos. Además de carbono, hidrógeno y oxígeno, los elementos más requeridos son principalmente: N, P, K, Ca, Mg y S.

El nitrógeno se adiciona en grandes cantidades y se encuentra presente en el medio en forma de nitrato o iones de amonio, o la combinación de ambos. El sulfato de magnesio ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) satisface tanto el requerimiento de magnesio como el de azufre. El fósforo puede adicionarse en cualquiera de las formas  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$  o  $KH_2PO_4$ . El potasio se encuentra en grandes cantidades en la naturaleza: es un catión que se agrega en forma de  $KCl$ ,  $KNO_3$ , ó  $KH_2PO_4$ . El calcio se adiciona con  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ,  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  o la forma anhidra de cualquier sal. El sodio: este catión no es requerido por plantas superiores, sin embargo, puede ser un elemento esencial para cultivos de halófitas, o plantas C4. El cloro: está presente en la forma de  $KCl$  ó  $CaCl_2$ . (5).

**B. Micronutrientes:** para una adecuada actividad metabólica, las células vegetales requieren de micronutrientes. Los más esenciales son: Fe, Mn, Zn, Bo, Cu, Co y Mo. Los últimos cinco elementos son fundamentales para la síntesis de clorofila y la función de los cloroplastos.

El hierro es requerido para la formación de precursores de la clorofila. El manganeso es necesario para el mantenimiento de la ultraestructura y el proceso fotosintético (la actividad del fotosistema II es proporcional al contenido de manganeso). El cobre y zinc son requeridos para la oxidación e hidroxilación de compuestos fenólicos. El molibdeno y hierro forman parte de las enzimas nitrato reductasa y nitrogenasa. El cobalto es el metal componente de la vitamina  $B_{12}$ . El boro es necesario para el mantenimiento de la actividad meristemática, está involucrado en la síntesis de bases nitrogenadas, en particular uracilo.

Varios micronutrientes están relacionados con la actividad de los reguladores de crecimiento. Ejemplos: Zn-auxinas (Zn está relacionado con la síntesis de triptófano, precursor del AIA). Boro: deficiencia de boro reprime la síntesis de citocininas, pero aumentan los niveles de auxinas.

Agentes quelatos: son compuestos cuyas moléculas son capaces de detener un ión de un metal con varias uniones químicas formando un anillo complejo (un quelato). Ejemplo: EDTA (ácido etilendinitrotetraacético). Bajas concentraciones de EDTA estimulan el crecimiento, haciendo que el hierro esté disponible en bajas cantidades (5).

### 3.1.4.2 Vitaminas

Las plantas verdes se consideraban normalmente autótrofas para las vitaminas, pero puede ser

necesario añadir al medio algunas de ellas, hasta cuando los cultivos crezcan o se hayan vuelto verdes. En la mayoría de los medios, la tiamina, la piridoxina y el ácido nicotínico se consideran benéficas y se añaden de forma rutinaria. Las vitaminas son necesarias para llevar a cabo una serie de reacciones catalíticas en el metabolismo y son requeridas en pequeñas cantidades. Las vitaminas más empleadas son (10,20): tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) se añade como tiamina HCl en cantidades que varían de 0.1 a 30 mg/l. Esta es realmente la única vitamina esencial para el crecimiento de células vegetales. Acido nicotínico (niacina). Piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>): se añade como piridoxina-HCl. Mio-inositol: no es propiamente una vitamina, sino un azúcar-alcohol. Tiene un efecto estimulante sobre la morfogénesis, partiendo probablemente en la vía biosintética del ácido galacturónico. Acido pantoténico: ayuda al crecimiento de ciertos tejidos. Acido fólico: disminuye la proliferación de tejido en la obscuridad, mientras que en la luz la aumenta, esto es debido a que en presencia de luz, es hidrolizado a ácido p-aminobenzóico. Riboflavina: es inhibidor del crecimiento de raíces. Vitamina E: ayuda a la formación de callos que provienen de embriones y en cultivos en suspensión, ayuda a la viabilidad de células (5).

#### 3.1.4.3 Reguladores del crecimiento

En cultivo de tejidos se utilizan propiamente cuatro grupos (5):

**A. Auxinas:** las auxinas comprenden una gran familia de sustancias que tienen en común la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular; sin embargo, se ha encontrado al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos (10). Entre las auxinas tenemos: AIB (ácido indolbutírico), se utiliza en un rango de 0.1 - 10 mg/l; AIA (ácido indolacético) se utiliza en un rango de 0.1 -10 mg/l; ANA (ácido naftalenacético); 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxiacético); PCA (ácido paracloro fenoxiacético), se utiliza en un rango de 0.001 -10 mg/l (5).

Existen varias auxinas llamadas "naturales", que incluyen AIA, indol-3-acetonitrilo, etilindol-3-acetato, indol-3-carboxialdehído, indol-3-acetaldehído, indol-3-acetamida, ácido indol-3-carboxílico, ácido indol-3-propiónico, ácido 5-hidroxilindol-3-acético, ácido indol-3-acetilas-pártico, y otras; es probable que, a medida que se realicen más investigaciones, se descubran más sustancias de esta naturaleza. De las auxinas "naturales", el AIA es el compuesto de mayor utilización.

También se utiliza ampliamente un buen número de sustancias que provocan un efecto fisiológico similar y que se han producido sintéticamente (12).

**B. Citocininas:** Skoog *et al.* (1955) propusieron el término cinina como un nombre genérico para sustancias naturales y sintéticas que presentaban los mismos tipos de actividad biológica que la cinetina 6-furfuril-aminopurina (Miller *et al.*, 1956). Con el fin de evitar confusión con el término cinina, según se utiliza en los sistemas animales, un poco más tarde se adoptó la palabra citocinina para designar las sustancias de división celular (12).

Las citocininas: promueven la división celular y organización de callos. Las más utilizadas son: BA (benciladenina): cinetina y zeatina, en concentración de 0.03 - 30 mg/l. La BA es la citocinina de empleo más generalizada. La cinetina estimula la formación de brotes y yemas adventicias (5).

**C. Acido giberélico:** luego de su aislamiento a partir del hongo *Gibberella fujikuroi*, el ácido giberélico (AG) se convirtió en un tema de intensa investigación, aunque la adición de este compuesto a los medios de cultivo de tejidos ha sido ocasional a pesar de sus efectos fisiológicos tan amplios. Se sabe que hay varias giberelinas, relacionadas con el AG, que son productos complejos del metabolismo del hongo o de plantas superiores, y que son capaces de intervenir en el crecimiento de muchas plantas ocasionando especialmente un alargamiento celular (12).

El ácido giberélico promueve la elongación y reprime la formación de brotes de cualquier clase de tejido organizado (5).

**D. Acido abscísico:** se utiliza en casos muy especiales, estimula la sincronización durante la embriogénesis en ciertos cultivos, también inhibe el crecimiento (5).

#### 3.1.4.4 Interacción de reguladores de crecimiento

En micropropagación, principalmente se utilizan citocininas y auxinas como reguladores de crecimiento. Lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas, las cuales se mencionan en el cuadro 1 (29).

**Cuadro 1. Interacción de reguladores de crecimiento.**

Relación para la formación o inhibición de yemas adventicias			
Promoción	Auxinas	<	citocininas
Inhibición	Auxinas	>	citocininas
Relación para la formación o inhibición de raíces adventicias			
Promoción	Auxinas	>	citocininas
Inhibición	Auxinas	<	citocininas
Relación para la formación o inhibición de de diferenciación de callos			
Promoción	Auxinas	>	citocininas
Inhibición	Auxinas	<	citocininas

#### 3.1.4.5 Aminoácidos

Ningún aminoácido es esencial para el crecimiento de tejidos *in vitro*, si embargo existen varios que se han utilizado experimentalmente. Los aminoácidos proporcionan una fuente inmediata de nitrógeno al tejido y su asimilación puede ser más rápida que el nitrógeno inorgánico proporcionado por el medio. Los aminoácidos también pueden actuar como agentes quelantes. A continuación se indican las funciones principales de los aminoácidos en sistemas *in vitro*. La glutamina y asparagina son transportadores de nitrógeno. L-arginina estimula raíces. L-serina es empleada en cultivo de microsporas y L-cisteína es un agente reductor (5).

#### 3.1.4.6 Carbohidratos

Son utilizados como fuente de energía y como reguladores osmóticos. Sacarosa es el azúcar empleado universalmente. Le siguen en importancia glucosa, maltosa, rafinosa, fructuosa, galactosa, manosa y lactosa (5).

#### 3.1.4.7 Agua

El agua utilizada para la preparación de soluciones debe ser bidestilada, tridestilada o desmineralizada, de cualquier forma el empleo de un destilador de vidrio es requerido en la destilación final.

### 3.1.4.8 Agentes solidificantes

Comúnmente se ha empleado el agar como un sistema de "soporte" para la preparación de medios sólidos o semisólidos. Las ventajas que representa el agar son:

- A) Con agua el agar forma geles que se derriten a 100 grados centígrados y se solidifican a 45 grados centígrados. Esto significa que este gel es estable a todas las temperaturas de incubación.
- B) El agar no es alterado por las enzimas vegetales.
- C) El agar no reacciona con los constituyentes del medio.
- D) No interfiere con la movilización de los constituyentes del medio.

Otros compuestos se han empleado para substituir el agar, sin embargo, pocos han tenido éxito. Posiblemente el que más popularidad ha alcanzado es el "Gelrite" (5).

### 3.1.4.9 Suplementos no definidos

Algunos de los suplementos utilizados han sido:

**A. Levadura y extracto de malta:** la levadura y el extracto de malta de cebada generalmente se suministran en concentraciones de 0.5% hasta 1% v/v. Estas dos sustancias se pueden considerar también como buenas fuentes de nitrógeno reducido y de precursores potenciales de las adenil-citocininas. (5,12).

**B. Agua de coco:** un paso importante en el desarrollo de las técnicas actuales para estimular la división celular de explantes fue la observación de que el agua de coco (AC), a niveles relativamente bajos (5% - 10% v/v), podía interactuar con las auxinas y promover el crecimiento, en situaciones en que por sí sola era ineficiente. El uso del AC y de 2,4-D en tubérculos de papa (Steward *et al.*, 1951) y del AC y ANA por Morel *et al.* (1951) en las monocotiledóneas, fueron otros progresos importantes (12).

El agua de coco es un medio muy complejo, con una amplia gama de componentes orgánicos e inorgánicos; tiene buena capacidad de amortiguación (buffer) y no es raro encontrar sales en ella. Aunque el AC es muy rica en magnesio y fosfato, no todos los elementos minerales que contiene son indispensables, y se pueden reemplazar por un medio salino basal. El contenido de azúcar, de alrededor de 2.5%, no es algo



fuera de lo común y se puede reemplazar (se han identificado sustitutos como glucosa, fructosa, sacarosa y otros azúcares). Adicionalmente, se encuentra en ella nitrógeno no proteínico soluble en forma de aminoácidos (12).

**C. Caseína Hidrolizada (CH):** la CH digerida enzimáticamente se ha utilizado de forma rutinaria como un suplemento de medios de cultivo para plantas (Steward *et al.*, 1954); se prefiere esta caseína porque la hidrólisis ácida destruye el triptófano presente en la sustancia (12).

**D. Antioxidantes,** como el ácido ascórbico.

**E. Absorbentes** como el carbón activado (5).

### 3.1.5 FACTORES FISICOS DEL AMBIENTE EN LOS CULTIVOS

La luz y la temperatura son los principales factores del ambiente de los cultivos. No se tocará la humedad relativa ya que a menudo es cercana al 100% en los recipientes de cultivo (30).

#### 3.1.5.1 Necesidades de luz

Los requerimientos de luz se dividen en diferentes parámetros: la potencia luminosa por unidad de superficie (o intensidad) expresada en W/m cuadrado. La duración de iluminación expresada en horas/día y la calidad espectral de la luz recibida. En los tejidos cultivados, la fotosíntesis no es una actividad necesaria, ya que la energía se proporciona en forma de glúcidos. Sin embargo, según observaciones, la fotosíntesis no se suprime por completo sino que sólo se reduce de manera considerable, tal vez por la presencia de azúcares en el medio. Además, la luz es indispensable para regular ciertos procesos morfogenéticos, como lo comprueban numerosos estudios (30).

#### A. Intensidad luminosa

Algunos fracasos en los cultivos de tejidos han sido causados por usar una intensidad de luz excesiva, del orden de la que se utiliza en los fitotrones; 50 W/metro cuadrado, o sea, unos 10,000 lux. Por lo general, en las salas de cultivo de tejidos, las intensidades luminosas varían de 5 a 25 W/metro cuadrado (1000 a 5000

lux) con uso muy común de 10 a 15 W/metro cuadrado. A menudo, en la fase 3 de la multiplicación vegetativa se tiende a aumentar la intensidad luminosa para "fortalecer" y preparar a las plántulas que van a ser trasladadas al invernadero (30).

### **B. Período de iluminación**

En apariencia, no hay muchos datos relacionados con la influencia eventual del período de iluminación en la morfogénesis de los tejidos (sobre todo si ésta actúa en forma análoga a la fotoperiodicidad en plantas completas). Parece que en la mayoría de los casos lo que más importa es la cantidad de energía luminosa recibida (intensidad x período de iluminación).

En la práctica, la mayoría de los cuartos de incubación de tejidos tienen un período de iluminación de 16 a 18 horas/día (30).

### **C. Calidad de la luz**

Los extraordinarios trabajos de Seibert (1975) demuestran que, en los callos de tabaco, la luz azul (banda espectral de casi 467 nm) o violeta (banda espectral de 419 nm) induce la formación de yemas, y que la luz roja (banda espectral de 660 nm) induce la rizogénesis. Estos resultados, así como otros (R. Letouze) indican que los procesos morfogenéticos son regulados por los pigmentos fotorreceptores: fitocromos y otros. Por lo tanto, sería interesante combinar dos tipos de tubos fluorescentes: uno, rico en radiaciones azules y otro más rico en radiaciones rojas. Por lo general, la referencia "luz de día de lujo" es más rica en radiaciones azules y la referencia "blanco brillante de lujo" es más rica en radiaciones rojas; además es necesario asegurarse con el proveedor de las curvas espectrales de emisión. Por lo general, los tubos fluorescentes blancos del comercio son suficientes (30).

Aunque la longitud de onda de luz influye, la división celular y la diferenciación de órganos, en micropropagación, se aprovecha la luz blanca proveniente de tubos fluorescentes, excepto en casos particulares (29).

### 3.1.5.2 Influencia de la luz en el cultivo de tejidos

Las tres cualidades de la luz que tienen mayor influencia en el crecimiento y la morfogénesis *in vitro* son: a) longitud de onda, y b) fotoperíodo.

Cada uno de estos atributos han tenido ambos efectos sobre la fotomorfogénesis y la fotosíntesis. La influencia puede ser directa, a través de la acción sobre los tejidos ya con un crecimiento *in vitro*, o indirectamente a través de la influencia de la luz sobre las plantas existentes (6).

#### A) Longitud de onda (azul y cercano a luz ultravioleta)

**Crecimiento de callos y morfogénesis.** Algunas especies pueden ser iniciadas a través de callos y crecen en la obscuridad, mientras que otros tejidos de plantas crecen mejor en condiciones de luz o en un fotoperíodo regular.

Un estudio detallado por Seibert *et al.* (1975), demostró que la combinación de ambos efectos de longitud de onda y densidad de flujo pueden ser importantes para el crecimiento y morfogénesis de callos. Usando callos de tabaco, ellos demostraron que los tejidos pudieron crecer en la obscuridad aunque este crecimiento estuvo estimulado y hubo formación de retoños promovido por el gran alcance de luz cercana a la ultravioleta (371 nm), en la irradiación muy baja de  $0.24 \text{ W m}^{-2}$  (iluminación de 90 lux), estuvo inhibida cuando la densidad de flujo incidente estuvo más de  $1.5 \text{ W m}^{-2}$  (540 lux); luz azul de longitudes de onda de 420 a 467 nm causó estimulación en el crecimiento el cual fue máximo a 3 y 6  $\text{W m}^{-2}$  (1080 y 2160 lux), respectivamente (6).

**La luz ultravioleta puede inducir actividad enzimática específica.** Cuando un cultivo de células libres de clorofila de perejil (*Petroselinum hortense*) son irradiados con longitudes de onda de luz debajo de 350 nm (particularmente luz ultravioleta - U.V.- de 290 nm) hay cambios en la composición de ARN mensajero (6).

## **B) Fotoperíodo**

Modos en que influye el fotoperíodo en las plantas: a) regulando la cantidad de energía radiante interceptada. El crecimiento de las plantas depende de la actividad fotosintética y es proporcional al tiempo de la longitud de exposición de luz natural o luz artificial. b) a través de mecanismos controladores por medio del cual las plantas son capaces de reconocer cambios en el medio ambiente. Por este propósito las plantas son capaces de realizar cambios con relación a la duración de luz de cada día (fotoperíodo) (6).

### **3.1.5.3 Requerimientos de luz de las plantas**

El crecimiento y el desarrollo de las plantas depende de la luz.

#### **A. Fotosíntesis**

Los procesos por medio del cual la energía luminosa es convertida a energía química en la biosíntesis química de dióxido de carbono y agua.

La energía en la fotosíntesis se obtiene con iluminaciones de longitudes de onda entre 400 y 700 nm, determinada por bandas ondulatorias de radiación activa fotosintética (RAF). La densidad de flujo fotón fotosintético (DFFF) o flujo fotón fotosintético (FFF), por consiguiente, están frecuentemente usadas para describir la densidad del flujo del fotón de 400 – 700 nm de luz (6).

#### **B. Fotomorfogénesis, la luz inducida, desarrollo de estructura o forma**

Fotomorfogénesis no necesariamente implica la absorción de grandes cantidades de energía luminosa, y usa sistemas receptores, el cual actúa como un mecanismo interruptor, colocando en movimiento los procesos morfogenéticos característicos de las plantas que crecen a la luz. De cualquier modo estos son algunos sistemas fotomorfogenéticos, el cual requiere de exposiciones prolongadas de mayor luz irradiante antes de que ocurran (6).

### C. Fototropismo, respuesta del crecimiento de las plantas la cual está inducida por luz unilateral

La fotosíntesis, fotomorfogénesis y fototropismo son facilitados por pigmentos que se encuentran en los tejidos, los cuales absorben la radiación con determinada longitud de onda (6).

#### 3.1.5.4 Influencia de la temperatura

La temperatura de los cuartos de incubación de tejidos se regula en forma constante de 22-25 grados centígrados. Esta práctica es criticable puesto que la temperatura real de los tejidos en el interior de los recipientes de cultivo puede ser mayor en dos a cuatro grados centígrados a la del cuarto (según mediciones hechas con termopares). En la práctica se regula la temperatura del cuarto en dos grados centígrados por debajo de la que se desee para los tejidos cultivados. Las especies de clima templado están "acostumbradas" a temperaturas más bajas que las especies tropicales. Por esta razón sería importante tener en los cuartos de incubación una temperatura del orden de  $20 \pm 1$  grados centígrados para las primeras y del orden de  $25 \pm 1$  grado centígrado para las segundas (30).

#### 3.1.6 CONCEPTO DE MICROPROPAGACION

La palabra micropropagación, utilizada por primera vez en 1968 por Hartmann y Kester en su conocido libro sobre propagación de plantas, parece haber ganado una amplia aceptación como término general para designar varias de las técnicas utilizadas en la multiplicación *in vitro* (13).

Originalmente, la micropropagación se definió como "cualquier" procedimiento aséptico que comprenda la manipulación, en las plantas, de órganos, tejidos o células que produzcan poblaciones de plántulas y que permitan el desvío tanto del proceso sexual normal como de la propagación vegetativa no aséptica que se practica convencionalmente. La micropropagación es prácticamente una multiplicación masiva *in vitro* (13,31).

La micropropagación clonal implica que cada una de las plántulas que se produce pueda crecer y ser fenotípica y genotípicamente idéntica a la planta original de la que se deriva (13).

### 3.1.6.1 Concepto de clon

Actualmente el código oficial de la nomenclatura de las plantas cultivadas define la palabra clon como: "un conjunto genéticamente uniforme de individuos (que pueden ser de naturaleza quimérica) originalmente derivados de un solo individuo mediante propagación asexual; por ejemplo, por medio de estacas, divisiones, injertos o apomixis obligada. Los individuos propagados a partir de la mutación perceptible de una yema forman un cultivar diferente de la planta progenitora".

Tal vez sea apropiado señalar que la palabra quimera, aplicada por primera vez a las plantas por el botánico alemán Hans Winkler, se refiere a una planta cuyos tejidos o células corresponden a dos o más ideotipos o al total de los determinantes hereditarios, ya sean cromosómicos o extracromosómicos; los ideotipos diferentes pueden ser causados por mutación somática, segregación o injerto (13).

### 3.1.6.2 Fines del cultivo de tejidos vegetales

Los principales fines del cultivo de tejidos vegetales son tres: el primero es la micropropagación masiva, el segundo es el mejoramiento genético y el tercero es la producción de metabólicos secundarios (29). Debido a la finalidad de la investigación solo trataremos sobre el primer aspecto.

#### A. Micropropagación masiva

Básicamente, todas las células vegetales poseen la característica de la totipotencia, es decir, la capacidad de desarrollar una planta completa mediante el proceso de regeneración. Existen técnicas convencionales de propagación que utilizan esta característica particular de las plantas, tal como la injertación con todas sus variantes. Así también la técnica de cultivo de tejidos vegetales utiliza esta característica, aunque más eficientemente que las técnicas tradicionales, debido a que proporciona un ambiente artificial favorable para el desarrollo de las plantas (29).

**3.1.6.3 Ventajas de la micropropagación masiva en comparación con los sistemas convencionales de propagación:**

- Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo.

- Reducción del tiempo de multiplicación.
- Posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida, a bajos costos y en tiempos económicamente costeables.
- Mayor control sobre la sanidad del material que se propaga.
- Facilidad para transportar el material *in vitro* de un país a otro, con menos restricciones aduaneras.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual sólo existan pocos individuos.
- Normalmente, se eliminan diversas enfermedades en el proceso, por consiguiente, facilita la producción y la calidad de las plantas.
- Se puede propagar en cualquier época del año y/o ambiente.
- Permite planificar la producción de acuerdo con la demanda (29,31).

#### **3.1.6.4 Pasos en la Micropropagación**

Murashige (18) ha propuesto tres pasos fundamentales para micropropagar eficientemente una especie: A) el establecimiento aséptico del cultivo; B) su multiplicación y C) el enraizamiento y la preparación del inóculo para su trasplante al suelo. A continuación se discutirán estos pasos con mayor detalle.

##### **A. Establecimiento del cultivo aséptico**

Una vez seleccionado el mejor explante se requiere desinfectarlo superficialmente; la razón: en el medio de cultivo pueden crecer microorganismos, principalmente bacterias y hongos, que competirán ventajosamente con el explante. Para esta desinfección se han empleado diferentes compuestos, siendo los más comunes las soluciones de hipoclorito de sodio y de calcio, el peróxido de hidrógeno, el nitrato de plata, el cloro comercial, el alcohol a diferentes porcentajes, y otros. La selección y concentración de los desinfectantes y el tiempo de desinfección se determinan, en gran medida, por las características del explante; en la práctica, se establecen experimentalmente por ensayo y error (31).

##### **B. Crecimiento del inóculo**

El estado de crecimiento, el explante se multiplica con la formación de callos o sin ella, según las condiciones de cultivo. La fase intermedia de formación de callos se evita cuando se tienen fines de

micropropagación debido al hecho, ya ampliamente conocido, de que las plantas provenientes de callos presentan diferentes grados de variación; ésta puede ser de tipo epigenético o corresponder a mutaciones verdaderas.

Es importante considerar también que la fase de crecimiento puede deberse a la división de las células, al aumento de su tamaño o a ambas cosas (31).

### **C. Enraizamiento de los brotes y preparación para su trasplante**

El proceso de enraizamiento en los brotes propagados *in vitro* requiere generalmente del trasplante a un medio de cultivo con menos concentración de sales. El medio de Murashige *et al.* (1962), por ejemplo, diluido al 50% ha dado resultados positivos en diferentes especies, asimismo, se requiere cambiar el balance hormonal, esto es, disminuir las citocininas y aumentar las auxinas exógenas ha sido suficiente estímulo para la diferenciación del sistema radical (27).

Si el sistema radical fue diferenciado *in vitro*, las plantas no se pueden trasplantar directamente a las condiciones de invernadero sin una paulatina adaptación a las condiciones del suelo. A este período de adaptación se le ha denominado período de endurecimiento.

De acuerdo con los procedimientos seguidos por Villalobos y Thorpe (31) con especies anuales, leñosas y suculentas, las plantas obtenidas *in vitro* se deben lavar cuidadosamente para eliminar todos los residuos de agar, que pueden ser una fuente de contaminación. Posteriormente, se trasplantan a recipientes con suelo estéril y se cubren con bolsas de polietileno, que se van perforando gradualmente hasta que queden eliminadas completamente en un período de 15 a 20 días; esto se hace con el objeto de adaptar paulatinamente las plantas a las condiciones del invernadero. Durante esta fase de endurecimiento, las plantas se riegan preferentemente con medio de cultivo diluido al 50% y posteriormente se sustituye esta fórmula de riego por soluciones nutritivas menos complejas (31).

#### **3.1.6.5 Factores que Influyen en la Micropropagación**

Existen diferentes factores que determinan el éxito en los sistemas de micropropagación. A



continuación se mencionan aquéllos más importantes acerca de los cuales se ha acumulado mayor información (31).

#### **A. Planta que dona el explante**

El estado fisiológico de la planta que da el explante (planta madre) influye significativamente en su capacidad morfogénica. Se ha encontrado, por ejemplo, que los requerimientos nutricionales y hormonales difieren cuando los tejidos cultivados provienen de plantas en diferentes edades fisiológicas.

Asimismo, se ha observado que la edad fisiológica del explante tiene gran influencia en la morfogénesis. Se sabe que mientras más joven y menos diferenciado esté el tejido que se va a sembrar, mejor será la respuesta *in vitro* (31).

#### **B. El Explante**

Como se mencionó anteriormente, el explante es una parte de un tejido o de un órgano que se aísla del resto de la planta con fines de cultivo. La selección del explante puede hacerse teniendo en cuenta el sistema de propagación de la planta.

El tamaño del explante no tiene aparentemente mayor influencia. Solamente en el caso de que se pretenda obtener plantas libres de virus, los meristemas (sin primordios foliares) tienen una alta probabilidad de diferenciar plantas libres de estos patógenos; sin embargo, es más difícil regenerar de ellos plantas completas (31).

#### **C. Factores físicos**

Aun cuando muchos factores pueden influir en la micropropagación, los factores físicos juegan un papel determinante; la luz y la temperatura han sido los factores físicos más extensivamente estudiados.

El papel de la luz en la diferenciación involucra varios componentes como son la intensidad, el fotoperíodo y la calidad; aunque se reconoce la importancia morfogénica de estos componentes, los estudios realizados con el fin de analizarlos son escasos (31).

## D. Medio de cultivo

De acuerdo con Gamborg *et al.* (1976) el éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física (31).

### 3.1.7 DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE LA PAPA

#### 4.1.7.1 Clasificación botánica

DIVISION	Tracheophyta
SUBDIVISION	Pynophytina (Gymnospermae)
SUBCLASE	Dicotiledóneas
ORDEN	Polemoniales
FAMILIA	Solanaceae
GENERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>tuberosum</i> (10).

#### 3.1.7.2 Organografía de la planta

La papa es una planta suculenta, herbácea y anual por su parte aérea, y perenne por sus tubérculos (tallos subterráneos) que se desarrollan al final de los estolones que nacen del tallo principal. Posee un tallo principal, y a veces varios tallos, según el número de yemas que hayan brotado del tubérculo. Los tallos son de sección angular, y en las axilas de las hojas con los tallos se forman ramificaciones secundarias.

Las hojas son alternas, igual que los estolones. Las primeras hojas tienen aspecto de simples, vienen después las hojas compuestas, imparipinadas con 3-4 pares de hojuelas laterales y una hojuela terminal. Entre las hojuelas laterales hay hojuelas pequeñas de segundo orden.

Las raíces se desarrollan principalmente en verticilo, en los nudos del tallo principal. Su crecimiento es primero vertical dentro de la capa de suelo arable, luego horizontal de 25-50 cm, y a veces, cuando el suelo lo permite, nuevamente vertical hasta 90 cm. La planta de papa posee un sistema radicular fibroso muy ramificado. La inflorescencia es cimosa; las flores son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es

gemosépalo lobulado; la corola es rotácea pentalobulada del color blanco al púrpura, con cinco estambres. Cada estambre posee dos anteras de color amarillo pálido, amarillo más fuerte o anaranjado, que producen polen a través de un tubo terminal; gineceo con ovario bilocular.

El fruto es una baya bilocular de 15-30 mm de diámetro, color verde, verde-amarillento o verde azulado. Cada fruto contiene aproximadamente 200 semillas.

El tubérculo de papa es un tallo subterráneo ensanchado, en la superficie posee yemas axilares en grupos de 3-5 y protegidas por hojas escamosas (ojos).

Una yema representa una rama lateral del tallo subterráneo. El tubérculo es un sistema morfológicamente ramificado; los ojos de los tubérculos tienen una disposición rotada alterna desde el extremo proximal del tubérculo (donde va inserto el estolón) hasta el extremo distal, donde los ojos son más abundantes. La yema apical del extremo distal es la que primero se desarrolla y domina el crecimiento de todas las otras. A este fenómeno se le ha denominado "dominancia apical" (16).

### 3.1.7.3 Origen

De Candolle (1883) afirma que durante el período del descubrimiento de América, el cultivo de la papa era practicado, con todas las apariencias de ser muy antiguo, en las regiones templadas de Chile hasta la Nueva Granada. Nadie puede dudar, escribe, que la papa sea originaria de América; lo que se necesita es determinar de qué parte de este vasto continente es (16).

Existe abundante evidencia arqueológica que demuestra que la papa ha sido cultivada en la región Andina de América del Sur desde tiempos muy antiguos. Se considera que el centro de origen habría estado localizado en las tierras altas del Sur de Perú, en un área comprendida entre el Cuzco y los alrededores del lago Titicaca. De allí se habría difundido por el sur hacia Bolivia, Argentina y Chile, y por el norte hacia Ecuador, Colombia, Venezuela, Guatemala y México (21).

### 3.1.7.4 Composición química

#### A. Carbohidratos

Los carbohidratos de la papa incluyen almidón, celulosa, glucosa, sacarosa y pectinas. Los almidones de la papa son amilosa y amilopectina en la proporción de 1:3, según Talburt y Smith (1959). El contenido de carbohidratos y proteínas de las papas frescas es mucho menor que el de los cereales, la cocción reduce las diferencias (16).

#### B. Proteína

Bechara *et al.* (1967) analizaron variedades de papas de la Colección Central Colombiana y encontraron valores de proteína desde 1.8 a 2.8%. De acuerdo con Talburt y Smith (1959) el tubérculo de papa contiene 1-2% de nitrógeno total en el producto seco; de este nitrógeno 1/2 ó 1/3 está presente como proteína (N x 6.25). Las proteínas de la papa son casi exclusivamente globulinas. El valor biológico de la proteína de la papa es superior que el de la mayoría de las otras fuentes vegetales y comparable al de la leche de vaca. Su alto contenido de lisina hace de la proteína de la papa un complemento muy valioso para las dietas con base en cereales que generalmente son bajas en este aminoácido (11,16).

#### C. Fibra

De acuerdo con Burton (1966) el contenido en fibra de las variedades de papa tiene valores que fluctúan de 1-10% con un valor normal aproximado de 2-4% de materia seca. Bajo la denominación de fibra se incluye: fibra cruda, celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas (16).

#### D. Minerales

El tubérculo de papa contiene los siguientes minerales: potasio, sodio, magnesio, calcio, hierro, fósforo, azufre, silicio, aluminio, manganeso, cloro y otros; todos en muy pequeñas cantidades (16).

## **E. Vitaminas**

La papa es una buena fuente de vitamina C, regular en niacina y tiamina, y baja en vitamina A y riboflavina (16).

## **F. Grasa**

El contenido en grasa de la papa es muy bajo y llega a 0.1% del peso fresco (16).

## **G. Alcaloides**

Los glicoalcaloides solanina y chaconina en dosis bajas son considerados constituyentes normales del tubérculo de papa (16).

### **3.1.7.5 Importancia**

La papa es un cultivo de importancia mundial y es una parte integral de la dieta alimenticia de una gran proporción de la población mundial. Debido a su producción se encuentra en el quinto lugar entre los cultivos de mayor importancia detras de: trigo, arroz, maíz y cebada. Las papas contienen 12 vitaminas esenciales y minerales incluyendo una alta cantidad de vitamina C. Una papa de un mediano tamaño contiene por lo menos el 65% de vitamina recomendado por U.S. Federal (8).

## **3.2 MARCO REFERENCIAL**

### **3.2.1 Características de los materiales experimentales**

#### **3.2.1.1 Clones de papa**

##### **A. Loman**

Clon bastante demandado en el mercado, pero debido a la degradación que ha ido sufriendo la semilla se ha vuelto muy susceptible al ataque de tizón tardío por lo que requiere la utilización de pesticidas para

poder convivir con esta enfermedad, lo que reduce rendimientos e incrementa costos, tiene un porcentaje de materia seca de 17-20%.

#### **Características:**

- Altura de planta 0.6 a 0.7 metros.
- Susceptible al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary).
- Tubérculo alargado y ovoide.
- No florea.
- Ojos blancos superficiales.
- Color externo del tubérculo amarillo crema y color interno crema.
- Dos a cinco tallos por planta.
- Distancia de siembra: entre surcos 0.75 metros entre plantas 0.25 a 0.30 metros.
- Ciclo del cultivo 70 a 90 días.
- Rendimiento de 15 a 20 ton/ha.
- Altitud: 1900 a 2700 msnm (1,21).

#### **B. Ictafrit**

El clon Ictafrit tiene su origen en Perú, y es el resultado del cruce experimental entre *Solanum andigena* y *S. tuberosum*. El objetivo era reducir el ciclo del cultivo en la región Andina. En Guatemala se ha cultivado a nivel de estaciones experimentales y algunos ensayos de campo.

#### **Características**

- Color de la piel blanco cremoso.
- Yemas color lila.
- Carnasa color crema.
- Tubérculo oblongo alargado (relación 2 : 1 con respecto al largo por ancho).
- Resistente al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary).
- Contenido de materia seca mediano.
- Por su ciclo de cultivo se considera intermedio.
- Excelente para climas fríos de días cortos.

- Ciclo del cultivo 90 a 120 días.
- Materia seca de 18 a 24%.
- Altitud: 2300 a 3200 msnm.
- Distancia de siembra: entre surcos 1 a 1.10 metros entre plantas 0.30 metros.
- Altura promedio de la planta 90 cm, con bastante ramificación, debido a lo anterior es de que tiene bastantes estolones largos por lo que requiere de una calza ancha y alta, caso contrario al clon Loman.
- Rendimiento de 25 a 30 ton/ha (9).

### 3.2.1.2 Medios de cultivo

A. La composición de cada medio de cultivo se encuentra en el cuadro 1 y la elaboración de los medios basales se puede observar en el apéndice I, II y III.

**B. Medio "C" de propagación en estado semisólido, del Centro Internacional de la Papa (CIP) (4).**

Utiliza el Medio Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP más los siguientes ingredientes:

-	Acido fólico	1.0	mg/l
-	Agua de coco	50.0	cm cúbicos
-	L-arginina HCl	4.0	mg/l
-	Pantotenato de calcio	2.0	mg/l
-	Putrescina HCl	10.0	mg/l
-	Sacarosa	3.0	%
-	Agar	0.8	%

**C. Medio "C" de propagación en estado líquido, del CIP (4).**

Utilizá el medio Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP más los ingredientes del medio de cultivo anterior, con la única diferencia de eliminar el agar de éste medio de cultivo.

**D. Medio "D" de propagación en estado semisólido, del CIP (4).**

Utiliza el medio Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP más los siguientes ingredientes:

- Acido giberélico	0.1	mg/l
- Sacarosa	2.5	%
- Agar	0.8	%

**E. Medio "D" de propagación en estado líquido, del CIP (4).**

Utiliza el medio Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP más los ingredientes del medio de cultivo anterior, con la única diferencia de eliminar el agar de éste medio de cultivo.

**F. Medio "I" de propagación en estado semisólido, del CIP (4).**

Utiliza el medio Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP más los siguientes ingredientes:

- Acido giberélico	0.4	mg/l
- Acido naftalenacético	0.01	mg/l
- Bencilamino purina	0.5	mg/l
- Pantotenato de calcio	2.0	mg/l
- Sacarosa	2.0	%

**G. Medio "I" de propagación en estado líquido, del CIP (4).**

Utiliza el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado por el CIP, más los ingredientes del medio de cultivo anterior, con la única diferencia de eliminar el agar de éste medio de cultivo.

**H. Medio "P2"**

El medio de cultivo "P2" fue desarrollado por el Ing. Ken Okabe. Y está compuesto por los macronutrientes de Ken Okabe, los micronutrientes de Murashige y Skoog (1962), las vitaminas de



Gamborg B5 (1967), Sacarosa al 3%, agar al 6%; más los suplementos de agua de coco, ácido fólico, L-arginina, pantotenato de calcio, putrescina HCl (19).

### **I. Medio "P7"**

El medio de cultivo "P7" fue desarrollado por el Ing. Ken Okabe. Y está compuesto por los macronutrientes de Ken Okabe, los micronutrientes de Murashige y Skoog (1962), las vitaminas de Gamborg B5 (1968), sacarosa al 3%, agar al 6%; más los suplementos de agua de coco, ácido fólico, L-arginina, pantotenato de calcio, putrescina HCl y ancymidol (19).

El medio de cultivo P7, indica que el suplemento de ancymidol a 0.4 ppm contribuye a frenar la superdominancia de crecimiento. El ancymidol inhibe el funcionamiento de giberelina interna. Entonces, éste medio de cultivo es eficaz para algunas variedades que tienen superdominancia, por la alta actividad de la giberelina interna, sin embargo para algunas variedades de papa funciona mal, por lo tanto es posible que induzca callosidad fuerte y prolongue el período de crecimiento (26).

### **RETARDADORES DE CRECIMIENTO DE PLANTA**

Varios compuestos han sido producidos para inhibir el crecimiento de las plantas y ha sido demostrado que inhiben la biosíntesis del ácido giberélico. Estos compuestos como AMO1618, CCC (cloruro de clorocolina), fosfon D y ancymidol fueron llamados retardantes de crecimiento. El ancymidol inhibe la conversión de kaureno a kaurenol, como se observa en la figura 1. Las giberelinas, como las auxinas, pueden ser metabolizadas a giberelinas conjugadas con glucosa. El ancymidol tiene por nombre químico ( $\alpha$ -Cyclopropyl- $\alpha$ -[4-methoxyphenyl]-5-pyrimidinemethanol), fórmula química  $C_{15}H_{16}N_2O_2$  y peso molecular 256.3 (25,28).

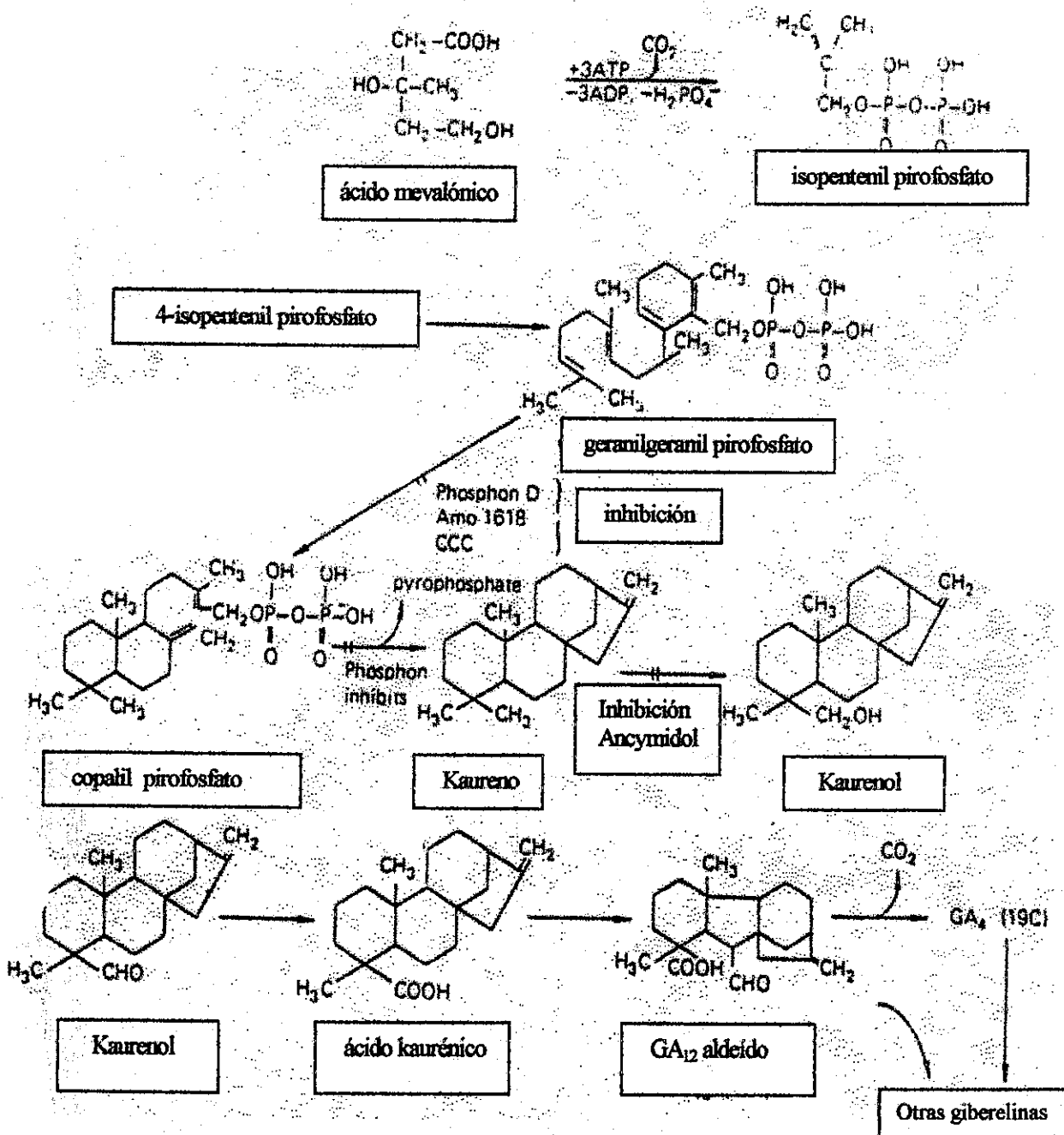


Figura 1. Biosíntesis de los ácidos giberélicos

### 3.2.2 Estudios realizados de micropropagación de papa (*Solanum tuberosum* L):

#### 3.2.2.1 Estabilización del protocolo de micropropagación para tres clones de papa

Okabe (26), realizó este estudio en el laboratorio de Biotecnología del ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas) durante los meses de abril de 1995 a septiembre de 1996.

En la fase de multiplicación se estudiaron tres medios de cultivo: el medio C del CIP (Centro Internacional de la Papa), medios P2 y P7, desarrollados por Ken Okabe (cuadro 4); con los clones Ictafrit, Loman e ICTA Chiquirichapa. Los resultados fueron los siguientes:

A. Con el medio de cultivo C del CIP, con los clones Ictafrit y Loman, se observó callosidad. Esta callosidad atrasó la formación de yemas y raíces, el clon ICTA Chiquirichapa formó yemas y raíces, sin embargo, los tallos fueron delgados y los entrenudos fueron largos.

B. En el medio de cultivo P2, todos los clones se desarrollaron bien, sin embargo, las yemas aun fueron delgadas. Los clones Ictafrit y Loman formaron tallos gruesos y más hojas, es decir, que los entrenudos fueron más cortos y el número de nudos se incrementó. La reducción de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  en el medio de cultivo P2 contribuye a mejorar el crecimiento *in vitro* en los clones. La sustitución de iones de nitrógeno por otro reactivo es para cubrir el lugar del amonio, sin embargo, en el clon Ictafrit no se solucionó el problema de superdominancia de crecimiento por ésta modificación.

C. En el medio de cultivo P7, con el clon Loman, se observó callosidad y se atrasó el desarrollo de órganos. Los clones Ictafrit e ICTA Chiquirichapa crecieron en mejor forma y se detuvo la superdominancia de crecimiento. El medio de cultivo P7 indica que el suplemento de ancymidol con 0.4 ppm contribuye a frenar la superdominancia de crecimiento, el ancymidol inhibe el funcionamiento de giberelina interna. Entonces, éste tratamiento es eficaz para algunas variedades que tienen superdominancia, por la alta actividad de la giberelina interna, sin embargo, para algunos clones funciona mal, por lo tanto es posible que induzca callosidad fuerte y prolongue el período de crecimiento.

### 3.2.2.2 Evaluación del efecto de la reducción de $\text{NH}_4\text{NO}_3$ e incremento de $\text{KNO}_3$ en los medios de cultivo de Ken Okabe para la propagación *in vitro* de papa de los clones Ictafrit y Loman.

Okabe (19) realizó este estudio en el laboratorio de Biotecnología del ICTA. En ésta investigación se modificó el protocolo del CIP para mejorar el crecimiento de algunos clones que no crecieron bien en el medio recomendado por el CIP. El clon Loman tiene problemas de fuerte callosidad en el medio de multiplicación D del CIP. El clon Ictafrit tiene problemas de bajo porcentaje de aclimatización debido a delgadez de las plantas. Esta investigación se realizó con el objetivo de resolver éstos problemas.

Los materiales de papa utilizados fueron los clones Ictafrit y Loman, se mantuvieron entre 21 y 24 grados centígrados, durante un fotoperíodo de 18 horas luz y 6 horas de obscuridad. Los medios de cultivo evaluados fueron: P1, P2, P7, P8 y P9 de Okabe (cuadro 2). La fórmula de Ken Okabe se evaluó para observar el efecto de reducir el  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e incremento del  $\text{KNO}_3$  como complemento de la fuente de nitrógeno.

**Cuadro 2. Serie de medios de cultivo para micropropagación de papa.**

Código	Macro	Micro	Vitaminas	Citocinina mg/l	Sacarosa %	Agar %	Otros mg/l
P1	KO	MS	B5	-	3	0.6	-
P2	KO	MS	B5	-	3	0.6	F-CIP
P7	KO	MS	B5	-	3	0.6	F-CIP Ancymidol 0.4
P8	½ NMS	MS	B5	-	3	0.6	F-CIP
P9	½ NMS	MS	B5	-	3	0.6	-

Nota: Todos los medios se ajustaron a pH entre 5.7 y 5.8. En lugar de agar se puede usar Phytigel a la mitad de concentración.

Los resultados fueron los siguientes: el clon Loman creció en una mejor forma en el medio P2 y formó fuerte callosidad en el medio P7. Los otros medios funcionaron menos que el P2. Por el contrario el clon Ictafrit creció mejor en el medio P7. Considerando éstas observaciones, se puede concluir lo siguiente:

- La callosidad de las plantas de papa se puede controlar por medio de la reducción de amonio.
- La aplicación de ancymidol controla la velocidad del crecimiento y engrosamiento de los tallos.
- La aplicación de ancymidol puede causar callosidad para algunos clones. Se cree que el ancymidol tiene efecto sobre las giberelinas y la delgadez de las plantas ocurre por fuerte efecto de giberelina, por lo que por medio del ancymidol se puede controlar el crecimiento y engrosamiento de los tallos. El clon Ictafrit crece muy rápido, pero se observa delgadez y pocos nudos. Con la inhibición de giberelina por ancymidol se consiguió,

en 20 días, los siguientes resultados: se aumentó el número de nudos, la velocidad de crecimiento se redujo y se engrosaron los tallos. Después de 20 días volvieron a crecer rápido y delgado. En ésta fase, las yemas crecieron aproximadamente cinco centímetros, con bastantes raíces. Es recomendable que se aclimaten antes de terminar el efecto del ancymidol. El clon Loman tiene una alta tasa de aclimatación y la bifurcación de tallo es poca, por el contrario, Ictafrit es débil para aclimatación.

### 3.2.2.3 Estabilización del protocolo de microtuberización para tres clones de papa.

Okabe (26), realizó este estudio en el laboratorio de Biotecnología del ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas) durante los meses de abril de 1995 a septiembre de 1996.

En la fase de microtuberización se estudiaron tres medios de cultivo: los medios P3, P5 y P6 desarrollados por Ken Okabe (cuadro 3).

**Cuadro 3. Serie de medios de cultivo para microtuberización de papa.**

Código	Macro	Micro	Vitaminas	Citocinina mg/l	Sacarosa %	Agar %	Otros mg/l
P3	KO	MS	NN+AP1	-	9	-	-
P5	KO	MS	NN+AP1	-	9	-	Ancymidol 0.83
P6	KO	MS	NN+AP2	BA 0.05	9	-	Ancymidol 0.83

Nota: todos los medios se ajustaron a pH entre 5.7 y 5.8. En lugar de agar se puede usar Phytigel a la mitad de concentración.

En los resultados se observó que en todos los medios de cultivo hubo formación de microtubérculos, sin embargo, la formación de tubérculos no se observó en cada yema.

A. En el medio de cultivo P3 se observó menor número de tubérculos en comparación con los otros dos medios de cultivo. Relativamente, el tamaño de los tubérculos fue de mediano a grande.

B. En el medio de cultivo P5 la mayor parte de las yemas formaron de uno a tres tubérculos. El suplemento de ancymidol funcionó eficaz en cada clon.

C. En el medio de cultivo P6, el clon ICTA Chiquirichapa tuvo la tendencia de formar más tubérculos que en los otros medios de cultivo. En los otros dos clones no se observó diferencia significativa en la proporción de la formación de tubérculos. El clon Ictafrit formó callosidad encima de los tubérculos, éste clon tuvo la tendencia de formar los tubérculos más pequeños que en los medios de cultivo P3 y P5.

### **3.2.2.4 Producción de plantas de papa libres de los virus X, Y, y S, a través del cultivo de meristemos y el uso de termoterapia aplicada a plantas enfermas con estos virus.**

Zuñiga (32), realizó la investigación en las instalaciones del laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: para preservar la plantas sanas obtenidas se indujo la formación de tuberculillos, para lo cual previamente se evaluó el efecto de 0 ppm, 2.5 ppm, 5 ppm, 7 ppm y 10 ppm de Bencilaminopurina (BAP) en la inducción de tubérculos, para lo cual se evaluó el número y peso de tubérculos producidos a los 40 días de tratamiento. Se observó que el tratamiento de 10 ppm de BAP induce el mayor número de tubérculos y que existe un efecto directamente proporcional en función del número y la dosis de BAP. Los mejores pesos por tubérculo se obtuvieron en los tratamientos que presentaron las medias de número menor, siendo el tratamiento de 2.5 ppm el que mejor peso por tubérculo presentó.

#### 4. OBJETIVOS

- 4.1 Evaluar el efecto de nueve medios de cultivo, dos intensidades lumínicas de incubación y dos edades de siembra sobre el crecimiento *in vitro* del clon Ictafrit.
- 4.2 Evaluar el efecto de nueve medios de cultivo, dos intensidades lumínicas de incubación y dos edades de siembra sobre el crecimiento *in vitro* del clon Loman.

## 5. HIPOTESIS

- 5.1 Para la propagación *in vitro* de microesquejes del clon Ictafrit existe una combinación de medio de cultivo y una intensidad lumínica de incubación, que es consistente a través de dos edades de siembra, y que produce una mayor tasa de crecimiento.
  
- 5.2 Para la propagación *in vitro* de microesquejes del clon Loman existe una combinación de medio de cultivo y una intensidad lumínica de incubación, que es consistente a través de dos edades de siembra, y que produce una mayor tasa de crecimiento.



## 6. METODOLOGIA

### 6.1 Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en el kilómetro 21.5 carretera hacia Amatitlán, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala.

### 6.2 Manejo del Experimento

#### 6.2.1 Preparación del medio basal (MB)

La preparación del medio basal se realizó de acuerdo al consumo y las facilidades disponibles en el laboratorio (ver apéndice I,II y III). En la investigación se requirió: 1.2 litros del medio MS, 7.2 litros del medio MS modificado por el CIP, 1.2 litros del medio P2, y 1.2 litros del medio P7.

#### 6.2.2 Preparación de medios de cultivo

Una vez elaborado el medio basal se procedió a preparar los medios de cultivo, y distribuirlos a los tubos de cultivo. En cada tubo de cultivo se colocó 10 ml de medio de cultivo, posteriormente los medios con o sin gelificantes se esterilizaron en autoclave a 121 grados centígrados, durante 20 minutos a una presión de 103.4 kP (15 libras por pulgada cuadrada) (4).

#### 6.2.3 Selección del material

Los clones de papa utilizados fueron plantas *in vitro*, que se conservan en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA). El explante utilizado fue un microesqueje proveniente de una etapa fenológica joven.

##### 6.2.3.1 Aleatorización

Los tratamientos se aleatorizaron dentro de cada bloque, de la manera siguiente: se sorteó el orden de

siembra en cada medio de cultivo. Se sembró una repetición por día, lo que constituyó un bloque.

### **6.2.3.2 Siembra**

Se realizó una siembra escalonada, sembrando una repetición por clon al día (72 unidades experimentales) durante diez días consecutivos dando un total de 720 tubos de cultivo sembrados. A los 30 días después de la siembra se tomaron datos de todas las variables de respuesta únicamente a 360 unidades experimentales, lo que se le denominó edad de siembra 1; mientras que las plantas en los otros 360 tubos de cultivo únicamente se volvieron a micropropagar escalonadamente, en las mismas condiciones, en otros 360 tubos de cultivo para tomar resultados a los 30 días después de la siembra lo que se le denominó edad de siembra 2. La edad de siembra 2 se realizó con la finalidad de establecer la consistencia de los resultados en las variables de respuesta.

### **6.2.3.3 Medición de temperatura**

Durante la etapa del experimento se tomaron temperaturas (máxima, media y mínima) diarias en las camas de crecimiento, en las dos intensidades lumínicas de incubación (1000 y 3000 lux), con un termohigrógrafo.

### **6.2.3.4 Condiciones ambientales de incubación**

Los materiales sembrados en los medios de cultivo, se trasladaron a cuartos de crecimiento con una temperatura de 20 grados centígrados, con intensidades lumínicas de 1000 lux y 3000 lux (según los tratamientos) por lámparas fluorescentes de luz blanca marca Sylvania, daylight de 40 W. Y un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Las lámparas estaban a 22 centímetros de distancia de la parte superior de los tubos de cultivo.

## **6.2.4 Medición de la variable de respuesta**

### **6.2.4.1 Peso fresco de tallo y raíces**

Para la toma de datos de estas variables se procedió de la manera siguiente: a los 30 días después de

la siembra, se extrajeron las plantas con raíces de los tubos de cultivo y posteriormente se les dió un lavado para eliminar residuos de medio de cultivo, luego se pesaron las raíces y el tallo en forma separada en gramos.

#### **6.2.4.2 Altura de la planta**

Para la toma de datos de esta variable se procedió de la siguiente manera: a los 30 días después de la siembra, se extrajeron las plantas con las raíces de los tubos de cultivo, luego se midió la distancia que hay de la yema del explante a la parte más alta de la planta, en centímetros.

#### **6.2.4.3 Número de entrenudos**

Se realizó un conteo del número de entrenudos por planta. Esta variable se tomó estando la planta dentro del tubo de cultivo.

#### **6.2.4.4 Longitud de entrenudos**

Los datos de longitud de entrenudos se obtuvieron dividiendo la altura de planta entre el número de entrenudos por planta. El rango adecuado de longitud de entrenudos para la micropropagación es de 0.7 a 2.0 centímetros, con base en este rango se seleccionó la misma.

#### **6.2.4.5 Número de raíces**

Para la toma de datos de esta variable se procedió a contar el número de raíces primarias de la planta.

#### **6.2.4.6 Longitud de raíces**

Para cuantificar esta variable se obtuvo un promedio entre las longitudes de las raíces primarias de cada planta.

## 6.2.5 Diseño Experimental

Debido a que existió una gradiente que fueron los días de siembra, se utilizó el diseño bloques al azar con arreglo factorial, con 10 repeticiones.

## 6.2.6 Factores y niveles

### 6.2.6.1 Medios de cultivo

- A. MS = Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962)
- B. CS = Medio de cultivo C del CIP en estado semisólido.
- C. CL = Medio de cultivo C del CIP en estado líquido.
- D. DS = Medio de cultivo D del CIP en estado semisólido.
- E. DL = Medio de cultivo D del CIP en estado líquido.
- F. IS = Medio de cultivo I del CIP en estado semisólido.
- G. IL = Medio de cultivo I del CIP en estado líquido.
- H. P2 = Medio de cultivo P2 de Ken Okabe (actualmente utilizado en el ICTA, TESTIGO).
- I. P7 = Medio de cultivo P7 de Ken Okabe.

### 6.2.6.2 Intensidades lumínicas

- A. 1000 lux (actualmente utilizado en el ICTA, TESTIGO)
- B. 3000 lux (recomendada por el CIP).

### 6.2.6.3 Edades de siembra

- A. Edad 1 = datos tomados a 30 días después de la siembra del explante.
- B. Edad 2 = datos tomados a 60 días después de la siembra del explante, después de un subcultivo realizado a los 30 días en las mismas condiciones.

### 6.2.7 Modelo Estadístico:

$$Y_{ijkl} = u + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + R_l + E_{ijkl}$$

donde:

$Y_{ijkl}$ =	Variable de respuesta.
$u$ =	Efecto de la media general.
$A_i$ =	Efecto del i-ésimo medio de cultivo.
$B_j$ =	Efecto de la j-ésima intensidad lumínica.
$C_k$ =	Efecto de la k-ésima edad de siembra.
$AB_{ij}$ =	Efecto de la interacción entre el i-ésimo medio de cultivo y la j-ésima intensidad lumínica de incubación.
$AC_{ik}$ =	Efecto de la interacción entre el i-ésimo medio de cultivo y la k-ésima edad de siembra.
$BC_{jk}$ =	Efecto de la interacción entre la j-ésima intensidad lumínica y la k-ésima edad.
$ABC_{ijk}$ =	Efecto de la ijk-ésima interacción de medio, intensidad lumínica y edad de siembra.
$R_l$ =	Efecto del l-ésimo bloque.
$E_{ijkl}$ =	Error experimental asociado a la ijkl-ésima unidad experimental.

### 6.2.8 Unidad Experimental

Como unidad experimental se utilizó un tubo de cultivo de 25 x 150 mm, el cual contenía un microesqueje.

### 6.2.9 Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron 36 y se hicieron 10 repeticiones por tratamiento, los cuales suman 360 unidades experimentales por clon, dando un total de 720 unidades experimentales. Pero debido a que fue necesario establecer la consistencia de los resultados, se tomaron datos a los 30 y 60 días después de la siembra, por tal motivo se incrementó el número de unidades experimentales a 1080. Los 36 tratamientos de cada clon se trabajaron en forma independiente y se detallan en el cuadro 3.

Cuadro 4. Combinación de los diferentes niveles de cada factor que forma un tratamiento.

Tratamiento Número	Medio de cultivo		Intensidad Lumínica		Edad de siembra
1-	MS	X	1000 LUX	X	EDAD 1
2-	MS	X	1000 LUX	X	EDAD 2
3-	MS	X	3000 LUX	X	EDAD 1
4-	MS	X	3000 LUX	X	EDAD 2
5-	CS	X	1000 LUX	X	EDAD 1
6-	CS	X	1000 LUX	X	EDAD 2
7-	CS	X	3000 LUX	X	EDAD 1
8-	CS	X	3000 LUX	X	EDAD 2
9-	CL	X	1000 LUX	X	EDAD 1
10-	CL	X	1000 LUX	X	EDAD 2
11-	CL	X	3000 LUX	X	EDAD 1
12-	CL	X	3000 LUX	X	EDAD 2
13-	DS	X	1000 LUX	X	EDAD 1
14-	DS	X	1000 LUX	X	EDAD 2
15-	DS	X	3000 LUX	X	EDAD 1
16-	DS	X	3000 LUX	X	EDAD 2
17-	DL	X	1000 LUX	X	EDAD 1
18-	DL	X	1000 LUX	X	EDAD 2
19-	DL	X	3000 LUX	X	EDAD 1
20-	DL	X	3000 LUX	X	EDAD 2
21-	IS	X	1000 LUX	X	EDAD 1
22-	IS	X	1000 LUX	X	EDAD 2
23-	IS	X	3000 LUX	X	EDAD 1
24-	IS	X	3000 LUX	X	EDAD 2
25-	IL	X	1000 LUX	X	EDAD 1
26-	IL	X	1000 LUX	X	EDAD 2
27-	IL	X	3000 LUX	X	EDAD 1
28-	IL	X	3000 LUX	X	EDAD 2
29-	P2	X	1000 LUX	X	EDAD 1
30-	P2	X	1000 LUX	X	EDAD 2
31-	P2	X	3000 LUX	X	EDAD 1
32-	P2	X	3000 LUX	X	EDAD 2
33-	P7	X	1000 LUX	X	EDAD 1
34-	P7	X	1000 LUX	X	EDAD 2
35-	P7	X	3000 LUX	X	EDAD 1
36-	P7	X	3000 LUX	X	EDAD 2

**Cuadro 5. Composición química de cada medio de cultivo.**

COMPONENTES	Contenido en cada medio de cultivo (mg/litro)								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	---	---	---	---	---	---	---	67	67
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	370	370	370	370	370	370	435	310
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	450	450	450	450	450	450	295	295
KNO <sub>3</sub>	1900	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2450	2200
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	1750	1750	1750	1750	1750	1750	412,5	412,5
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	---	---	---	---	---	---	---	75	75
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	175	175	175	175	175	175	85	85
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.8	27.5
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.5	37.3	37.5
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3	25	25	25	25	25	25	22.3	22.3
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8.6	10	10	10	10	10	10	8.6	8.6
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
KI	0.83	1	1	1	1	1	1	0.83	0.83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	5	5	5	5	5	5	6.2	6.2
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Glicina	2	2	2	2	2	2	2	---	---
Tiamina-HCl	0.1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	10	10
Piridoxina-HCl	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1
Acido nicotínico	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1
Inositol	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Sacarosa	30000	30000	30000	25000	25000	20000	20000	30000	30000
Agar	8000	8000	---	8000	---	8000	---	7000	7000
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
Acido fólico	---	1	1	---	---	---	---	1	1
Agua de coco	---	50 ml	50 ml	---	---	---	---	50 ml	50 ml
L-arginina HCl		4	4	---	---	---	---	---	---
Pantotenato de calcio		2	2	---	---	2	2	2	2
Putrescina HCl		10	10	---	---	---	---	10	10
Acido giberélico				0.1	0.1	0.4	0.4	---	---
Acido naftalenacético						0.01	0.01	---	---
Bencilamino purina						0.5	0.5	---	---
L-arginina								4	4
Ancymidol								---	0.4

**NOTA:**

- A. = MS = Medio de cultivo Murashige y Skoog  
 B. = CS = Medio de cultivo C de CIP (semisólido)  
 C. = CL = Medio de cultivo C de CIP (líquido)  
 D. = DS = Medio de cultivo D de CIP (semisólido)  
 E. = DL = Medio de cultivo D de CIP (líquido)  
 F. = IS = Medio de cultivo I de CIP (semisólido)  
 G. = IL = Medio de cultivo I de CIP (líquido)  
 H. = P2 = Medio de cultivo P2 de Ken Okabe  
 I. = P7 = Medio de cultivo P7 de Ken Okabe

### 6.3 Análisis de la información

Para procesar la información de todas las variables del experimento se realizó un análisis de varianza para cada variable de respuesta utilizando el diseño bloques al azar con arreglo factorial. En los casos en que se obtuvo diferencias significativas entre tratamientos o factores por variable de respuesta, se efectuó un análisis utilizando la prueba de medias de Duncan al 5 %.

La elección del protocolo para el mejor crecimiento *in vitro* de los clones Ictafrit y Loman, estuvo en función de la confirmación de cualquiera de los dos enunciados que se mencionan a continuación:

- a) Que los resultados de la primera fase de la investigación (edad de siembra 1), y la resiembra de estos materiales en las mismas condiciones del experimento (edad de siembra 2) fueran consistentes estadísticamente en cuanto a la mayor respuesta de la variable.
- b) Que los resultados de la resiembra (edad de siembra 2) fueran mayores a los resultados de la siembra (edad de siembra 1). Ya que posteriormente se pretende micropropagar masivamente estos materiales sin que estos disminuyan de micropropagación en micropropagación en cuanto a las variables estudiadas.



## 6. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados se analizaron separadamente por cada clon y por cada variable de respuesta.

### 7.1 Clon Ictafrit

#### 7.1.1 Altura de planta

El análisis de varianza para la variable de respuesta altura de planta en centímetros (cuadro 6), mostró diferencias altamente significativas para los factores: edad de siembra, medio de cultivo, intensidad lumínica de incubación y para la interacción edad por medio de cultivo y significativa para la interacción medio de cultivo por luminosidad.

**Cuadro 6. Análisis de varianza de la variable altura de planta del clon Ictafrit.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	130.2938	130.2938	9.15	0.0027 **
Medio de cultivo	8	2066.5661	258.3208	18.15	0.0001 **
Luminosidad	1	98.0027	98.0027	6.89	0.0091 **
E*M	8	371.4263	46.4283	3.26	0.0014 **
E*L	1	2.5859	2.5859	0.18	0.6702 NS
M*L	8	248.5490	31.0686	2.18	0.0287 *
E*M*L	7	11.4038	1.6291	0.11	0.9974 NS
ERROR	293	4170.0263	14.2322		
TOTAL	336	7394.3428			

C.V. = 47.94295

\*\* diferencias altamente significativas (1 %)

= Interacciones a analizar

\* diferencias significativas (5 %)

NS No significativo (> 5 %)

E = Edad de siembra. M = Medio de cultivo. L = Luminosidad.

#### 7.1.1.1 Altura de planta según la interacción edad de siembra por medio de cultivo

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 7.) se determinó que la mayor altura de planta se obtuvo con la combinación de edad de siembra 1 y el medio de cultivo DL del CIP con una altura media de 13.6 cm, en orden descendente le siguen cuatro combinaciones estadísticamente iguales.

**Cuadro 7. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable altura de planta del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (edad, medio)	Altura de Planta (cm)								
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	13.6	A							
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	10.8		B						
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	10.6		B						
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	10.5		B	C					
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	10.1		B	C					
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	8.7			C	D				
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	8.2				D				
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	8.1				D				
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	8.1				D				
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	8.0				D				
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	7.9				D				
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	7.2				D	E			
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	7.0				D	E			
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	5.8					E	F		
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	5.7					E	F		
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	4.4						F	G	
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	2.8							G	
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.4								H

El comportamiento de los valores medios de altura de planta puede apreciarse en la figura 2, y en ella se observan las distintas interacciones de edad de siembra entre los medios de cultivo: DL – CS, MS – DS, DS – IS, IS – CL y CL – P7.

La mayor altura de planta se obtuvo con el medio de cultivo DL y la edad de siembra 1 como se mencionó anteriormente, en este medio de cultivo los resultados de altura de planta no fueron consistentes (edad de siembra 2); mientras que en el medio de cultivo CS los resultados de altura de planta para las edades 1 y 2 fueron 10.6 y 10.8 cm, respectivamente, este medio de cultivo si es consistente en cuanto a la variable de respuesta como se observa en el cuadro 7 sobre cuadro sombreados. Por lo tanto el medio de cultivo CS resultó ser el mejor medio de cultivo para la variable antes mencionada, debido que el clon Ictafrit se pretende propagar constantemente en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), para ello se requiere que este material genético no disminuya en su respuesta en cuanto a las variables estudiadas. La respuesta de los explantes a los medios de cultivo DL, DS y CL provocó una disminución de altura de planta con la edad de siembra, mientras que en los demás medios de cultivo la respuesta de los explantes fue igual según la edad de siembra.

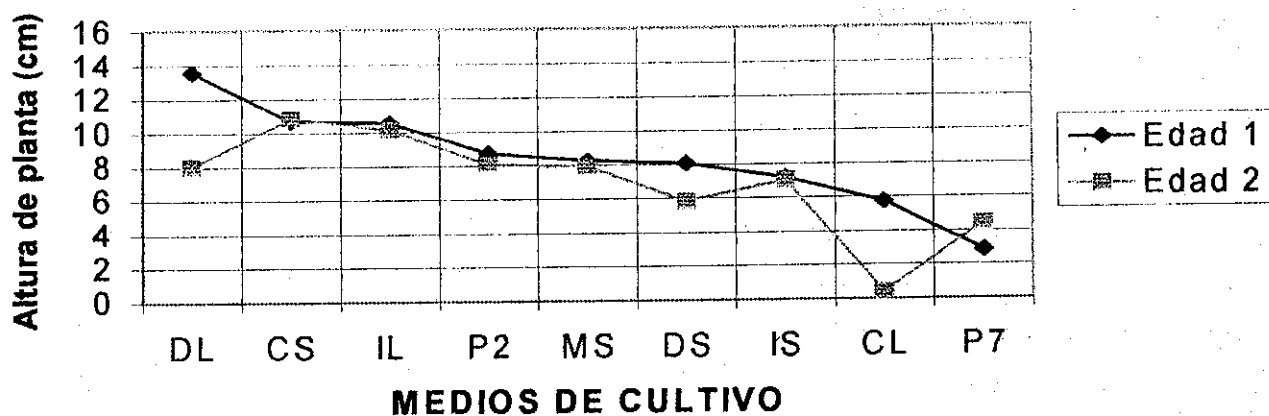


Figura 2. Altura de planta para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: DL: Medio de cultivo D del CIP en estado líquido. CS: Medio de cultivo C del CIP en estado semisólido. IL: Medio de cultivo I del CIP en estado líquido. P2: Medio de cultivo desarrollado por Okabe. MS: Medio de cultivo de Murashige y Skoog. DS: Medio de cultivo D del CIP en estado semisólido. IS: Medio de cultivo I del CIP en estado semisólido. CL: Medio de cultivo C del CIP en estado líquido. P7: Medio de cultivo desarrollado por Okabe.

#### 7.1.1.2 Altura de planta según interacción medio de cultivo por intensidad lumínica.

Con la utilización de la prueba de medias de Duncan (cuadro 8) se determinó, que en cinco combinaciones la respuesta de los explantes del clon Ictafrit a la altura de planta fue la mayor estadísticamente, y a la vez se describen estas combinaciones en el cuadro 4 en orden descendente.

Cuadro 8. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica para la variable altura de planta del clon Ictafrit.

TRATAMIENTOS (medio de cultivo, intensidad lumínica)	Altura de Planta (cm)				
Medio de cultivo IL, int. Lumínica 3000 lux	12.1	A			
Medio de cultivo DL, int. Lumínica 3000 lux	11.3	A	B		
Medio de cultivo CS, int. Lumínica 3000 lux	11.0	A	B		
Medio de cultivo DL, int. Lumínica 1000 lux	10.5	A	B		
Medio de cultivo CS, int. Lumínica 1000 lux	10.4	A	B		
Medio de cultivo P2, int. Lumínica 3000 lux	10.1		B	C	
Medio de cultivo MS, int. Lumínica 3000 lux	9.4		B	C	
Medio de cultivo IL, int. Lumínica 1000 lux	8.3			C	D
Medio de cultivo DS, int. Lumínica 1000 lux	7.3				D
Medio de cultivo IS, int. Lumínica 3000 lux	7.2				D
Medio de cultivo IS, int. Lumínica 1000 lux	7.0				D
Medio de cultivo MS, int. Lumínica 1000 lux	6.8				D
Medio de cultivo CL, int. Lumínica 1000 lux	6.7				D
Medio de cultivo P2, int. Lumínica 1000 lux	6.6				D
Medio de cultivo DS, int. Lumínica 3000 lux	6.5				D
Medio de cultivo P7, int. Lumínica 1000 lux	3.7				E
Medio de cultivo P7, int. Lumínica 3000 lux	3.5				E
Medio de cultivo CL, int. Lumínica 3000 lux	2.6				E

En la figura 3 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de altura de planta, y en ella puede observarse las distintas interacciones que se obtuvieron entre intensidad lumínica de incubación y los medios de cultivo: IL – DL, CS – P2, MS – IS, IS – DS, y P7 – CL.

Del análisis puede establecerse que la mayor altura de planta se obtiene con la combinación medio de cultivo IL y la intensidad lumínica de incubación de 3000 lux. Los medios de cultivo DS y CL fueron los únicos en que se incrementó la altura de planta con la intensidad lumínica de incubación de 1000 lux, como se observa gráficamente en la figura 3. En el medio de cultivo P7 la respuesta de los explantes a la altura de planta, fue la menor estadísticamente en las dos intensidades lumínicas de incubación; estos resultados coinciden con el experimento realizado por Ken Okabe (26), en el cual concluye que el medio de cultivo P7 contribuye a frenar la superdominancia de crecimiento para algunas variedades de papa.

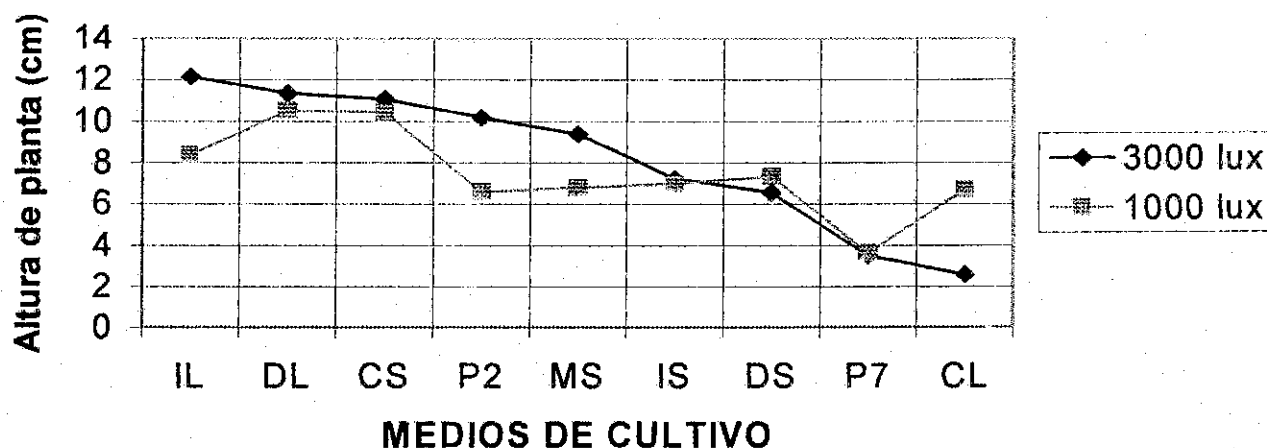


Figura 3. Altura de planta para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: IL: Medio I del CIP en estado líquido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. MS: Medio de Murashige y Skoog. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. P7: Medio desarrollado por Okabe. CL: Medio C del CIP en estado líquido.

### 7.1.2 Número de entrenudos

El análisis de varianza para la variable de respuesta número de entrenudos (cuadro 9), mostró diferencias altamente significativas para los factores: edad de siembra, medio de cultivo, intensidad lumínica de incubación y significativa para la interacción edad de siembra por medio de cultivo.

**Cuadro 9. Análisis de varianza de la variable número de entrenudos del clon Ictafrit.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	63.5823	0.0020	15.70	0.0001 **
Medio de cultivo	8	594.8508	7.1015	18.36	0.0001 **
Luminosidad	1	114.9348	1.5683	28.37	0.0001 **
E*M	8	71.2774	0.6961	2.20	0.0275 *
E*L	1	0.2459	0.0218	0.06	0.8055 NS
M*L	8	45.3570	0.3863	1.40	0.1961 NS
E*M*L	7	5.2892	0.2841	0.19	0.9881 NS
ERROR	293	1186.9119	4.0509		
TOTAL	336	2139.3781			

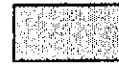
C.V. 37.99217

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra. M = Medio de cultivo. L = Luminosidad.



= Efectos a analizar

**7.1.2.1 Número de entrenudos según la intensidad lumínica de incubación**

Por la prueba de medias de Duncan (cuadro 10) se determinó que la mayor cantidad de entrenudos por planta, de acuerdo al factor intensidad lumínica se obtuvo con el empleo de la intensidad de 3000 lux con un número medio de entrenudos de 5.7. Y la menor cantidad de entrenudos por planta se dió con el empleo de la intensidad lumínica de 1000 lux con una media de 4.8.

**Cuadro 10. Prueba de Duncan al 5 %, según intensidad lumínica de incubación para la variable número de entrenudos del clon Ictafrit.**

INTENSIDAD LUMÍNICA DE INCUBACIÓN	Número de entrenudos		
3000 lux	5.7	A	
1000 lux	4.8		B

Se observa que en la intensidad lumínica de 3000 lux, se producen más entrenudos por planta que en la intensidad lumínica de 1000 lux. El comportamiento de los valores medios de la variable número de entrenudos por planta puede apreciarse en la figura 4. La luz es indispensable para regular ciertos procesos morfogénicos como lo comprueban numerosos estudios (30, 31).



La figura 5 muestra el comportamiento de los valores medios de la variable número de entrenudos por planta, notándose en ella las distintas interacciones que se obtuvieron de edad de siembra entre los medios de cultivo: CS – DL, DL – P7, P7 – MS, DS – IL y IL – IS.

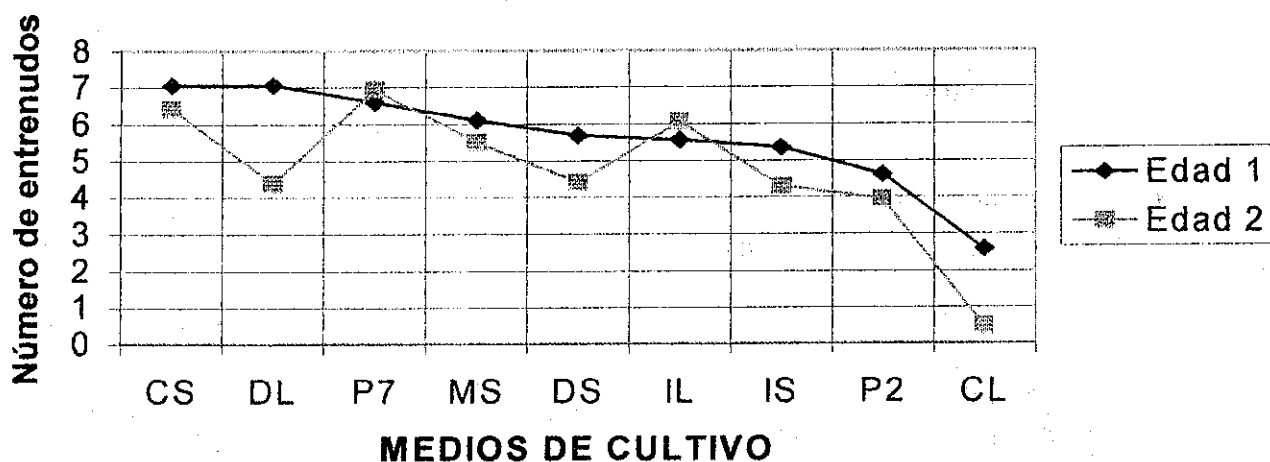


Figura 5. Número de entrenudos por planta para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. P7: Medio desarrollado por Okabe. MS: Medio de Murashige y Skoog. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. IS: Medio de cultivo I del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. CL: Medio C del CIP líquido.

Del análisis puede decirse que el mayor número de entrenudos por planta se obtiene con los medios de cultivo CS, DL y P7. En cuanto a la consistencia de los resultados los medios de cultivo CS y P7 resultaron ser los mejores, debido que obtuvieron la mayor cantidad de entrenudos por planta estadísticamente en las edades de siembra 1 y 2 como se observa en cuadro 10 sobre cuadros sombreados y figura 5. Los medios de cultivo P7 e IL fueron los únicos en que se incrementó el número de entrenudos por planta con respecto a la edad. Se observa que el medio de cultivo CL en las dos edades de siembra, obtuvo la menor cantidad de entrenudos por planta; el medio de cultivo C en estado líquido (CL) no funciona si la finalidad es obtener una mayor cantidad de entrenudos, pero en estado semisólido (CS) resultó ser el mejor medio de cultivo para esta variable de respuesta. La disminución de la variable de respuesta en el medio líquido (CL), probablemente se deba al fenómeno de la ósmosis, debido que cuando se coloca una célula vegetal en un medio diluido, el agua simplemente continúa entrando y expandiendo a la célula hasta que la presión de turgencia llega al punto de equilibrio; en este punto, la entrada de agua cesa de manera

automática y la célula se encuentra en un estado de equilibrio de agua con el ambiente diluido, sin hincharse de modo apreciable y sin que la célula misma haga trabajo alguno (23); y a la falta de oxígeno en los explantes, ya que algunos microesquejes al ser sembrados se sumergieron completamente en el medio de cultivo líquido, por el peso del explante, provocando un bajo porcentaje de brotación.

### 7.1.3 Longitud de entrenudos

El análisis de varianza para la variable de respuesta longitud de entrenudos (cuadro 12), mostró diferencias altamente significativas para el factor medio de cultivo y significativas para el factor intensidad lumínica y la interacción edad de siembra por medio de cultivo.

**Cuadro 12. Análisis de varianza de la variable longitud de entrenudos del clon Ictafrit.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	0.0020	0.0020	0.01	0.9377 NS
Medio de cultivo	8	56.8122	7.1015	20.84	0.0001 **
Luminosidad	1	1.5683	1.5683	4.60	0.0328 *
E*M	8	5.5692	0.6961	2.04	0.0415 *
E*L	1	0.0218	0.0218	0.06	0.8001 NS
M*L	8	3.0906	0.3863	1.13	0.3405 NS
E*M*L	7	1.9856	0.2841	0.83	0.5612 NS
ERROR	293	99.8651	0.3408		
TOTAL	336	178.4461			

C.V. = 40.84034

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra.

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.



= Efectos a analizar

#### 7.1.3.1 Longitud de entrenudos según la intensidad lumínica de incubación.

Con el empleo de la prueba de medias de Duncan (cuadro 13), se determinó que la mayor longitud de entrenudos de acuerdo a la luminosidad, se obtuvo con el empleo de la intensidad lumínica de 1000 lux con una longitud de entrenudos de 1.5 cm. La menor longitud se dió con el uso de la intensidad lumínica de 3000 lux con una media de 1.3 cm. Al aumentar la intensidad lumínica de 1000 lux a 3000 lux se reduce la longitud de entrenudos.



**Cuadro 13. Prueba de Duncan al 5 %, según la intensidad lumínica de incubación para la variable longitud de entrenudos del clon Ictafrit.**

INTENSIDAD LUMINICA DE INCUBACION	Longitud de entrenudos		
1000 lux	1.5	A	
3000 lux	1.3		B

La figura 6 muestra el comportamiento de los valores medios de la variable longitud de entrenudos en centímetros. Con respecto a la intensidad lumínica de incubación se observa un incremento de la longitud de entrenudos cuando se utiliza la intensidad lumínica de incubación de 1000 lux. La mayor longitud de entrenudos a esta intensidad lumínica se debe a la menor cantidad de entrenudos del clon Ictafrit en la intensidad lumínica de 1000 lux como se observa en la figura 4, debido que la longitud de entrenudos se encuentra dividiendo la altura de planta entre el número de entrenudos. Estos resultados se le atribuyen al fenómeno de la fotomorfogénesis, en el cual a nivel morfogénico, la luz actúa para estimular la expansión de las hojas e inhibir el alargamiento de los entrenudos (23), como se observa gráficamente que a mayor intensidad lumínica se obtiene una menor longitud de entrenudos.

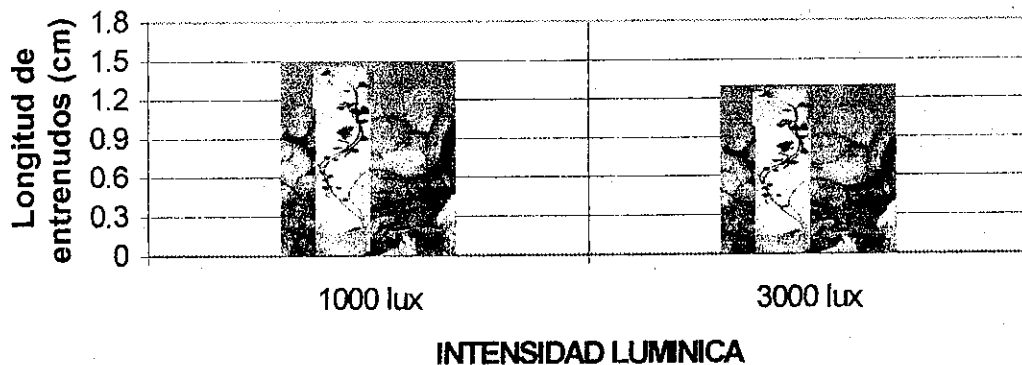


Figura 6. Longitud de entrenudos según intensidad lumínica de incubación para el clon Ictafrit.

### 7.1.3.2 Longitud de entrenudos según la interacción edad de siembra por medio de cultivo.

En el cuadro 14 se observan las combinaciones no adecuadas para la micropropagación, según el rango adecuado de 0.7 a 2.0 centímetros descrito en la metodología, que aparecen sobre cuadros sombreados,

y las combinaciones adecuadas para la micropropagación según la variable de respuesta (cuadros no sombreados).

El comportamiento de los valores medios de la variable longitud de entrenudos puede apreciarse en la figura 7, y en ella se observan las distintas interacciones que se obtuvieron entre edad de siembra y medios de cultivo.

**Cuadro 14. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable longitud de entrenudos del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (edad de siembra, medio de cultivo)	Longitud de Entrenudos (cm)						
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	1.99	consistente	A				
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	1.95	consistente	A				
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	1.90		A				
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	1.79		A	B			
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	1.78		A	B			
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	1.69		A	B	C		
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	1.54			B	C	D	
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	1.51			B	C	D	
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	1.50			B	C	D	
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	1.49			B	C	D	
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	1.47				C	D	
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	1.41				C	D	
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	1.37					D	
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	1.37					D	
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	0.88						E
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	0.71						E
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	0.43						F
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.37						F

La mayor longitud de entrenudos se obtuvo con el medio de cultivo P2. En cuanto a la consistencia de los resultados el medio de cultivo P2 resultó ser el mejor, debido que en este medio de cultivo se obtuvo la mayor longitud de entrenudos estadísticamente en las edades de siembra 1 y 2 como se observa gráficamente en la figura 7 y en el cuadro 14. La respuesta de los explantes a los medios de cultivo CS, IS, MS y P7 provocó un incremento en la longitud de entrenudos con la edad de siembra.

En el medio de cultivo P7 se observó un incremento significativo en la longitud de entrenudos con la edad de siembra, probablemente se deba a la adaptación del explante al medio de cultivo, debido a resultados similares que se obtuvieron en las variables altura de planta (figura 2) y número de entrenudos (figura 5) en el clon Ictafrit.

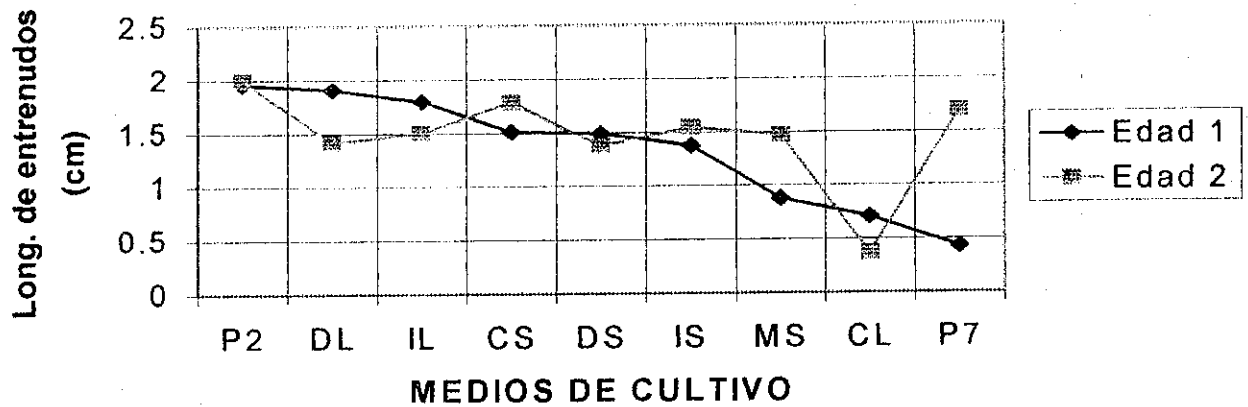


Figura 7. Longitud de entrenudos para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: P2: Medio desarrollado por Okabe. DL: Medio D del CIP en estado líquido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. CL: Medio C del CIP en estado líquido. P7: Medio desarrollado por Okabe.

#### 7.1.4 Peso fresco de tallo

El análisis de varianza para la variable de respuesta peso fresco de tallo en gramos (cuadro 15), mostró diferencias altamente significativas para los factores: edad de siembra, medio de cultivo, intensidad lumínica y significativa para la interacción edad de siembra por medio de cultivo.

Cuadro 15. Análisis de varianza de la variable peso fresco de tallo del clon Ictafrit.


Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	0.1062	0.1062	6.90	0.0091 **
Medio de cultivo	8	2.2592	0.2824	18.34	0.0001 **
Luminosidad	1	0.2409	0.2409	15.64	0.0001 **
E*M	8	0.2861	0.0358	2.32	0.0198 *
E*L	1	0.0074	0.0074	0.49	0.4859 NS
M*L	8	0.2162	0.0270	1.76	0.0855 NS
E*M*L	7	0.0606	0.0086	0.56	0.7864 NS
ERROR	293	4.5122	0.0154		
TOTAL	336	7.9681			

C.V. = 73.07948

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo. E = Edad de siembra. M = Medio de cultivo. L = Luminosidad.

 = Efectos a analizar

### 7.1.4.1 Peso fresco de tallo según la intensidad lumínica de incubación

Utilizando la prueba de medias de Duncan (cuadro 16), se determinó que el mayor peso de tallo de acuerdo al factor luminosidad, se obtuvo con el empleo de la intensidad lumínica de 3000 lux con un peso medio de tallo de 0.192 gramos y el menor peso de tallo se dió con el uso de la intensidad lumínica de 1000 lux con una media de 0.146 g.

**Cuadro 16. Prueba de Duncan al 5 %, según la intensidad lumínica de incubación para la variable peso fresco de tallo del clon Ictafrit.**

INTENSIDAD LUMINICA DE INCUBACION	Peso de tallo (g)		
3000 lux	0.192	A	
1000 lux	0.146		B

El comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de tallo en gramos puede apreciarse en la figura 8. Y se observa en los resultados obtenidos un incremento del peso fresco de tallo al utilizar la intensidad lumínica de 3000 lux.

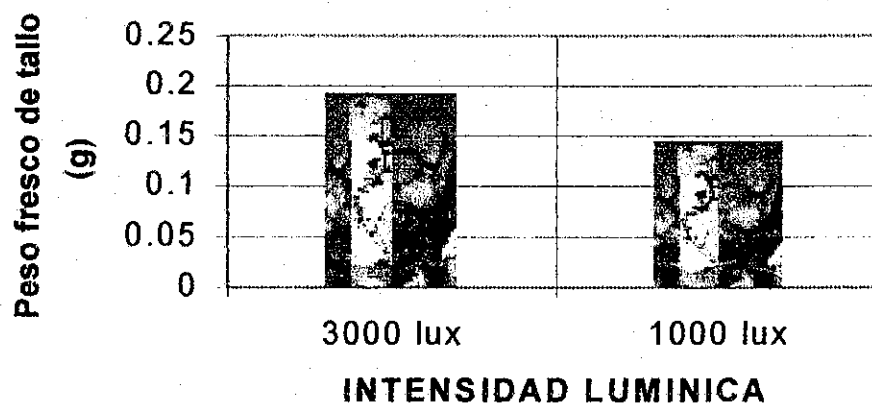


Figura 8. Comportamiento del peso fresco de tallo del clon Ictafrit, según intensidad lumínica.

### 7.1.4.2 Peso fresco de tallo según la interacción edad de siembra por medio de cultivo.

Con el empleo de la prueba de Duncan (cuadro 17), se determinó, que en dos combinaciones la respuesta de los explantes del clon Ictafrit al peso fresco de tallo, fue la mayor estadísticamente y a la vez se describen estas combinaciones en el cuadro 16 en orden descendente.

**Cuadro 17. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable peso fresco de tallo del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (edad de siembra, medio de cultivo)	Peso de Tallo (g)													
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	0.34	A												
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	0.31	A	B											
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	0.26		B	C										
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	0.25			C										
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	0.22			C	D									
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	0.21			C	D	E								
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	0.19				D	E	F							
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	0.18				D	E	F							
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	0.17				D	E	F	G						
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	0.16					E	F	G	H					
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	0.15						F	G	H					
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	0.12							G	H	I				
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	0.11								H	I	J			
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	0.08									I	J	K		
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	0.06										J	K	L	
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	0.06										J	K	L	
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	0.03											K	L	
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.004												L	

En la figura 9 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de tallo, notándose en ella las distintas interacciones que se obtuvieron de edad de siembra entre los medios de cultivo: IL – CL, CL – CS, CS – P7, P2 – MS y MS – DS.

Gráficamente se observa que el mayor peso fresco de tallo se obtuvo con la combinación edad de siembra 1 y medio de cultivo DL. Según los requisitos de elección del mejor protocolo descrito en el análisis de la información de la metodología, se establece que el medio de cultivo CS es el mejor medio de cultivo para esta variable de respuesta, debido que en el se obtuvo un mayor peso fresco de tallo en la edad de siembra 2. La respuesta de los explantes a los medios de cultivo DL, IL y CL provocó una disminución significativamente en el peso fresco de tallo con la edad de siembra.

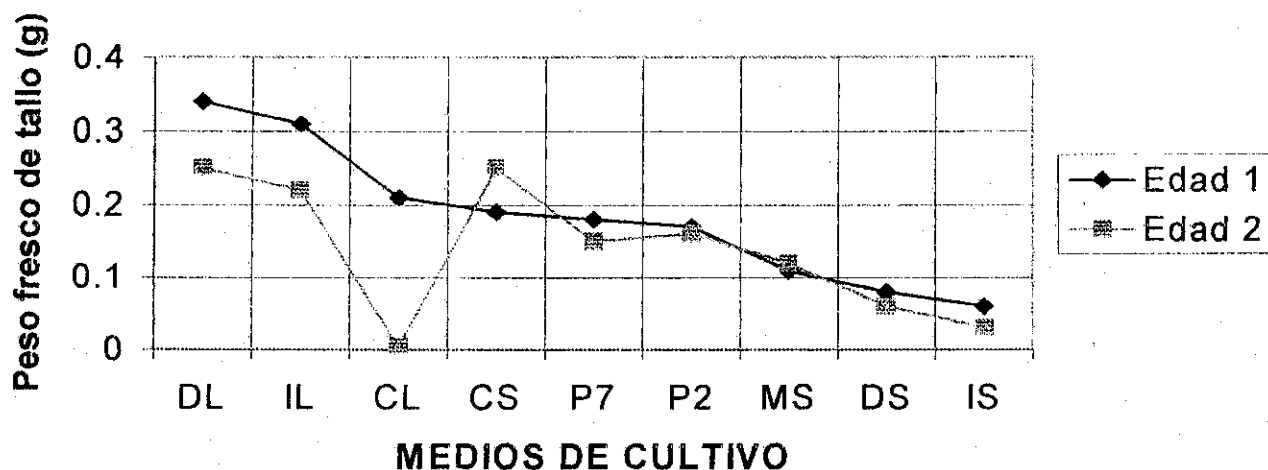


Figura 9. Peso fresco de tallo para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: DL: Medio D del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. MS: Medio de Murashige y Skoog. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IS: Medio I del CIP semisólido.

### 7.1.5 Peso fresco de raíz

El análisis de varianza para la variable de respuesta peso fresco de raíces en gramos (cuadro 18), mostró diferencias altamente significativas para los factores medio de cultivo, intensidad lumínica de incubación y significativas para las interacciones: edad de siembra por medio de cultivo; edad de siembra por intensidad lumínica y medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación.

Cuadro 18. Análisis de varianza de la variable peso fresco de raíces del clon Ictafrit.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	0.0001	0.0001	0.04	0.8360 NS
Medio de cultivo	8	1.1573	0.1447	61.03	0.0001 **
Luminosidad	1	0.0576	0.0576	24.31	0.0001 **
E*M	8	0.0431	0.0054	2.27	0.0226 *
E*L	1	0.0103	0.0103	4.38	0.0373 *
M*L	8	0.0445	0.0056	2.35	0.0185 *
E*M*L	7	0.0076	0.0011	0.46	0.8640 NS
ERROR	293	0.6945	0.0024		
TOTAL	336	2.0699			

C.V. = 77.20762

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo. E = Edad de siembra. M = Medio de cultivo. L = Luminosidad.

 = Interacciones a analizar

### 7.1.5.1 Peso fresco de raíz según la interacción edad de siembra por medio de cultivo

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 19) se determinó, que en dos combinaciones la respuesta de los explantes del clon Ictafrit al peso fresco de raíces, fue la mayor estadísticamente y a la vez se describen estas combinaciones en el cuadro 19 en orden descendente sobre cuadros sombreados.

**Cuadro 19. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable peso fresco de raíces del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (edad de siembra, medio de cultivo)	Peso de Raíz (g)														
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	0.20	A													
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	0.19	A													
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	0.13		B												
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	0.11			C											
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	0.09				D										
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	0.07					E									
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	0.06					E	F								
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	0.05						F	G							
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	0.04							G	H						
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	0.034							G	H	I					
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	0.033							G	H	I					
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	0.029							G	H	I	J				
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	0.026							G	H	I	J				
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	0.0135								H	I	J				
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	0.0089									I	J				
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	0.003														J
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	0.0009														J
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.0002														J

El mayor peso fresco de raíces se obtuvo con el empleo del medio de cultivo P7 en las edades de siembra 1 y 2 como se observa en la figura 10 y cuadro 18. De los resultados puede decirse que la respuesta de los explantes del clon Ictafrit al medio de cultivo P7 obtuvo el mayor peso fresco de raíces en forma consistente estadísticamente a través de las edades de siembra. La alta respuesta de este medio de cultivo al peso de raíces se le atribuye al compuesto químico ancymidol, ya que es el único compuesto que diferencia el medio de cultivo P7 del medio P2 y sus funciones (26,28), se reflejan en los resultados obtenidos que fueron: la reducción de la altura de planta como puede observarse en la figura 2 y una disminución de la distancia de entrenudos (figura 7), debido a estos resultados probablemente el ancymidol influye en la formación de las raíces del clon Ictafrit.

El comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de raíces puede apreciarse en la figura 10, y en ella puede observarse las distintas interacciones que se obtuvieron entre edad de siembra y medios de cultivo: P7 – P2, P2 – CS, CS – MS, MS – DL, DL – DS, DS – CL y CL – IL. Los medios de cultivo P7 y CS fueron los únicos en que se incrementó el peso de raíces con la edad de siembra.

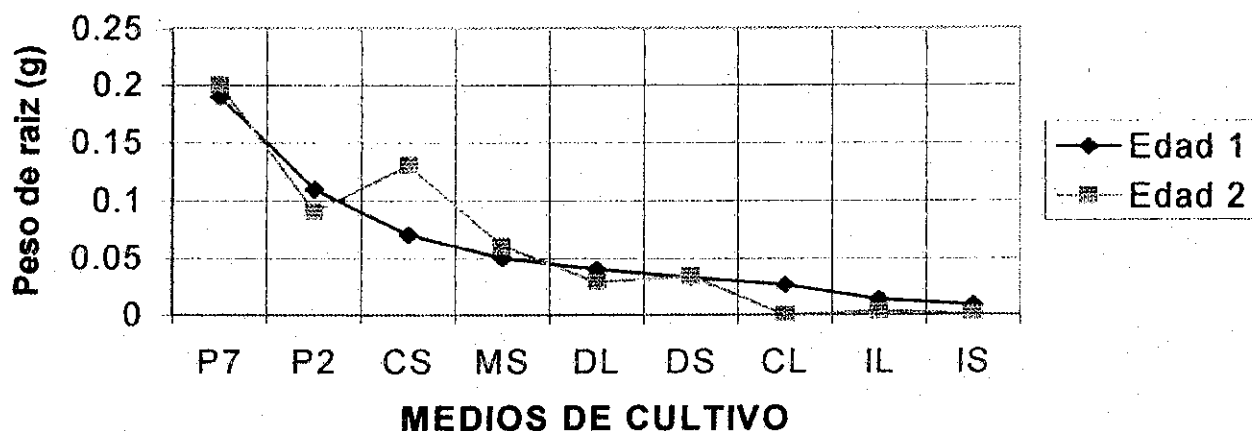


Figura 10. Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. DL: Medio D del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP estado líquido.

#### 7.1.5.2 Peso fresco de raíz según la interacción edad de siembra por intensidad lumínica

Con el empleo de la prueba de Duncan (cuadro 20) se determinó que el mayor peso fresco de raíces, de acuerdo a la interacción edad de siembra por intensidad lumínica, se obtuvo con la combinación edad de siembra 2 a una intensidad lumínica 3000 lux con un peso medio de raíces de 0.076 g. El menor peso fresco de raíces se dió con la combinación edad de siembra 2 por intensidad lumínica de 1000 lux con una media de 0.046 g.

Cuadro 20. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por intensidad lumínica de incubación para la variable peso fresco de raíces del clon Ictafrit.

COMBINACIONES (edad de siembra, intensidad lumínica)	Peso de Raíz (g)			
Edad de siembra 2, int. Lumínica 3000 lux	0.077	A		
Edad de siembra 1, int. Lumínica 3000 lux	0.070	A	B	
Edad de siembra 1, int. Lumínica 1000 lux	0.055		B	C
Edad de siembra 2, int. Lumínica 1000 lux	0.047			C



En la figura 11 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de raíces en gramos, notándose en ella la interacción de edad de siembra por intensidad lumínica de incubación.

Del análisis puede establecerse que el mayor peso fresco de raíces se obtiene con el empleo de la intensidad lumínica de 3000 lux en las edades de siembra 1 y 2. De los resultados puede decirse que la intensidad lumínica de 3000 lux influye significativamente en cuanto al mayor peso fresco de raíces en las edades de siembra 1 y 2. Normalmente se recomiendan intensidades lumínicas de incubación de 1000 a 3000 lux, según la especie de planta; pero bajo iluminaciones suficientes, las plantas crecen fuertes y bien desarrolladas (29).

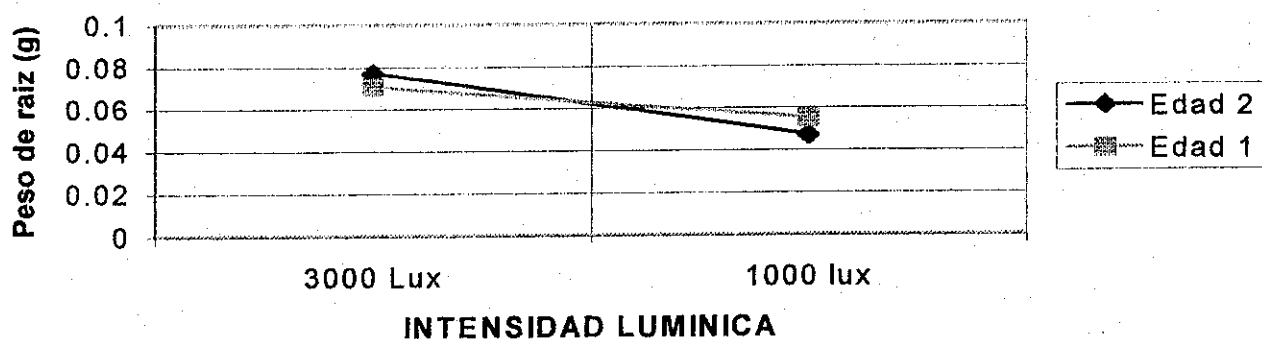


Figura 11. Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.

### 7.1.5.3 Peso fresco de raíz según la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 21) se determinó que el mayor peso fresco de raíces se obtuvo con la combinación medio de cultivo P7 a una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux con un peso medio de raíces de 0.234 gramos.

**Cuadro 21. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación para la variable peso fresco de raíces del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (medio de cultivo, intensidad lumínica)	Peso de Raíz (g)							
Medio de cultivo P7, int. Lumínica 3000 lux	0.234	A						
Medio de cultivo P7, int. Lumínica 1000 lux	0.157		B					
Medio de cultivo P2, int. Lumínica 3000 lux	0.122			C				
Medio de cultivo CS, int. Lumínica 3000 lux	0.117			C				
Medio de cultivo CS, int. Lumínica 1000 lux	0.087				D			
Medio de cultivo P2, int. Lumínica 1000 lux	0.084				D			
Medio de cultivo MS, int. Lumínica 3000 lux	0.075				D			
Medio de cultivo DL, int. Lumínica 3000 lux	0.046					E		
Medio de cultivo DS, int. Lumínica 3000 lux	0.045					E		
Medio de cultivo MS, int. Lumínica 1000 lux	0.037					E	F	
Medio de cultivo DL, int. Lumínica 1000 lux	0.031					E	F	G
Medio de cultivo CL, int. Lumínica 1000 lux	0.030					E	F	G
Medio de cultivo DS, int. Lumínica 1000 lux	0.021						F	G
Medio de cultivo CL, int. Lumínica 3000 lux	0.011							G
Medio de cultivo IL, int. Lumínica 3000 lux	0.010							G
Medio de cultivo IL, int. Lumínica 1000 lux	0.006							G
Medio de cultivo IS, int. Lumínica 3000 lux	0.005							G
Medio de cultivo IS, int. Lumínica 1000 lux	0.004							G

El comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de raíces en gramos puede apreciarse en la figura 12, notándose en ella las principales interacciones de intensidad lumínica entre los medios de cultivo: DS - CL y CL - IL.

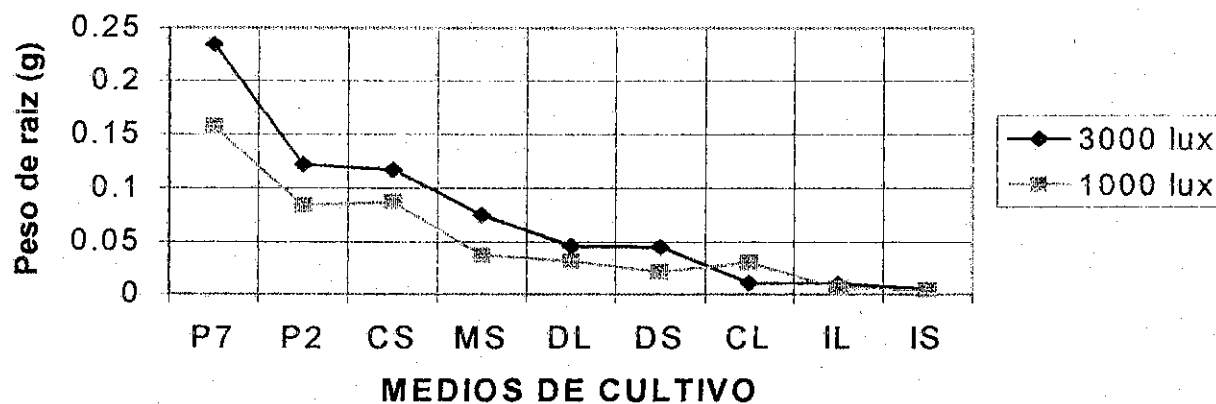


Figura 12. Peso fresco de raíces para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. DL: Medio D del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP estado líquido.

Con respecto a la figura 12 se observa un incremento del peso fresco de raíces al utilizar el medio de cultivo P7 a una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux. La respuesta de los explantes al medio de cultivo CL provocó una disminución en el peso fresco de raíces con la intensidad lumínica de incubación de 3000 lux.

Gráficamente se observa que el medio de cultivo I del CIP en estado líquido y semisólido en las dos intensidades lumínicas de incubación, mostró el menor peso fresco de raíces en el clon Ictafrit. Estos resultados se atribuyen a la mayor cantidad de citocininas (BAP = 0.5 mg/l) que auxinas (ANA = 0.01 mg /l) presentes en el medio de cultivo (cuadro 5), ya que al presentarse una relación mayor de citocininas que auxinas en el medio de cultivo inhiben la formación de raíces en el explante (29).

### 7.1.6 Número de raíces

El comportamiento de la variable número de raíces no es afectado por la edad de siembra, debido que la respuesta de los explantes de clon Ictafrit no mostró diferencias significativas en cuanto al número de raíces, lo cual nos indica que de la siembra a la resiembra de los microesquejes, la respuesta de los explantes al número de raíces fue consistente. En los factores intensidad lumínica de incubación y medio de cultivo y en la interacción edad de siembra por medio de cultivo, la respuesta de los explantes al número de raíces mostró diferencias significativas en cuanto al número de raíces, esto nos indica que el número de raíces es afectado por los factores antes mencionados.

**Cuadro 22. Análisis de varianza de la variable número de raíces del clon Ictafrit.**


Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	20.9650	20.9650	1.38	0.2416 NS
Medio de cultivo	8	2620.4421	327.5553	21.51	0.0001 **
Luminosidad	1	170.2589	170.2589	11.18	0.0009 **
E*M	8	550.0457	68.7557	4.52	0.0001 **
E*L	1	3.8684	3.8684	0.25	0.6146 NS
M*L	8	126.5203	15.8150	1.04	0.4068 NS
E*M*L	7	16.4759	2.3537	0.15	0.9933 NS
ERROR	293	4460.8065	15.2246		
TOTAL	336	8196.5934			

C.V. = 63.09647

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS = No significativo. E = Edad de siembra.

 = Efectos a analizar

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.

### 7.1.6.1 Número de raíces según la intensidad lumínica de incubación

Por la prueba de medias de Duncan (cuadro 23) se determinó que la mayor cantidad de raíces, se obtuvo con el empleo de la intensidad lumínica de incubación de 3000 lux con un número medio de raíces de 6.7. La menor cantidad de raíces se obtuvo con la intensidad lumínica de 1000 lux.

**Cuadro 23. Prueba de Duncan al 5 %, según la intensidad lumínica de incubación para la variable número de raíces del clon Ictafrit.**

INTENSIDAD LUMINICA DE INCUBACION	Número de raíces		
3000 lux	6.7	A	
1000 lux	5.5		B

La figura 13 muestra el comportamiento de los valores medios de la variable número de raíces por planta, y en ella se observa un incremento del número de raíces al utilizar la intensidad lumínica de 3000 lux. A menudo en la fase de la multiplicación vegetativa se tiende a aumentar la intensidad luminosa para “fortalecer” y preparar a las plántulas que van a ser trasladadas al invernadero (31).

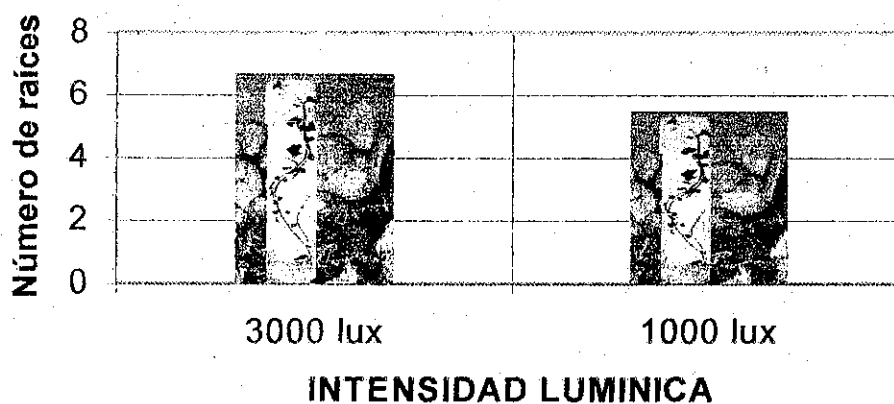


Figura 13. Comportamiento del número de raíces del clon Ictafrit, según intensidad lumínica.

### 7.1.6.2 Número de raíces según la interacción edad de siembra por medio de cultivo

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 24) se determinó, que la mayor cantidad de raíces por planta se obtuvo con la combinación edad de siembra 2 y medio de cultivo P7, con una media de raíces de 14.5; en este medio de cultivo los valores de la variable número de raíces fueron consistentes estadísticamente, ya que la respuesta de los explantes al medio de cultivo P7, provocó un incremento en el número de raíces de 5.7 en la edad de siembra dos con relación a la edad de siembra 1 (cuadro 24), por lo que se considera el mejor medio de cultivo para esta variable de respuesta según la forma de elección del protocolo descrito en el análisis de la información de la metodología; la alta respuesta del clon Ictafrit en el medio de cultivo P7 se debe al compuesto ancymidol, que ya fue. En los medios de cultivo DL, MS, CS, IL, IS y CL disminuyó el número de raíces con la edad de siembra.

**Cuadro 24. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable número de raíces del clon Ictafrit.**

TRATAMIENTOS (edad de siembra, medio de cultivo)	Número de Raíces												
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	14.5	A											
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	10.8		B										
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	8.8			C									
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	7.7			C	D								
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	7.2			C	D	E							
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	6.9			C	D	E							
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	6.9			C	D	E	F						
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	6.7				D	E	F						
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	6.2				D	E	F						
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	5.6					E	F	G					
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	5.5					E	F	G					
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	5.4					E	F	G					
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	4.8						F	G					
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	4.1							G	H				
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	2.7								H	I			
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	2.6								H	I			
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	1.7									I	J		
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.5											J	

El comportamiento de los valores medios de la variable número de raíces por planta puede apreciarse en la figura 14, y en ella puede observarse las principales interacciones entre edad de siembra y medios de cultivo: P7 - P2, P2 - DL, DL - MS, CS - DS, DS - IL, IL - IS, e IS - CL.

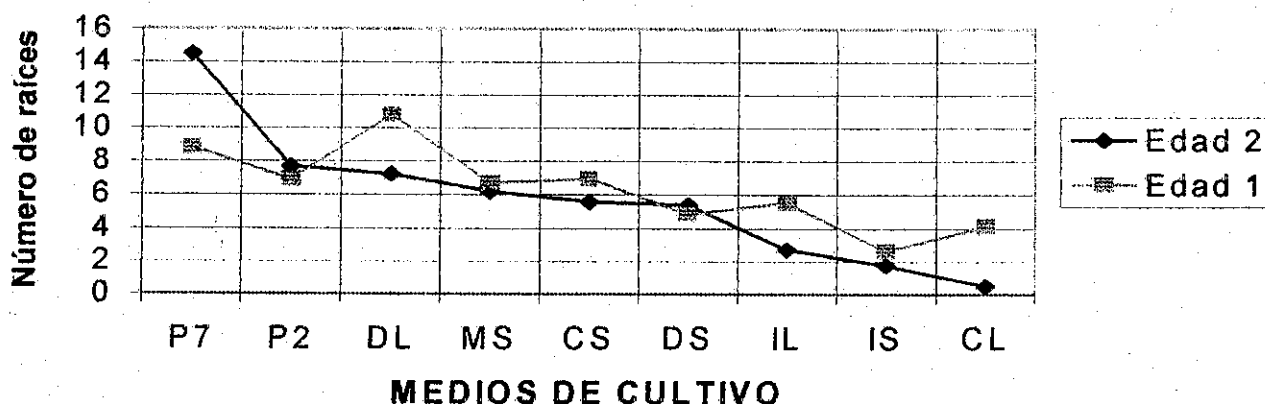


Figura 14. Número de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Ictafrit.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. DL: Medio D del CIP en estado líquido. MS: Medio de Murashige y Skoog. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido.

### 7.1.7 Longitud de raíces

En el factor edad de siembra la respuesta de los explantes del clon Ictafrit, no mostró diferencias significativas en cuanto a la longitud de raíces, lo que permite indicar que la longitud de raíces no se ve afectada por el factor antes mencionado, lo cual nos indica que de la siembra a la resiembra la respuesta de los explantes a la longitud de raíces es consistente. En el factor medio de cultivo y en la interacción edad de siembra por medio de cultivo, la respuesta de los explantes a la longitud de raíces mostró diferencias significativas en cuanto a la variable, lo que nos indica que la longitud de raíces se ve afectada por el factor medio de cultivo y la interacción edad de siembra por medio de cultivo. Las interacciones edad de siembra por medio de cultivo, medio de cultivo por intensidad lumínica y edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica no mostraron diferencias significativas en cuanto a la longitud de raíces.



La mayor longitud de raíces se obtiene con los medios de cultivo DS y MS. En el medio de cultivo DS los valores de longitud de raíces fueron consistentes estadísticamente en la edad de siembra 2, ya que la respuesta de los explantes al medio de cultivo DS, provocó un incremento en longitud de raíces de 2.4 centímetros con la edad de siembra, y en el medio MS los resultados también fueron consistentes estadísticamente en cuanto a la variable de respuesta (cuadro 26). Por lo que se consideran los mejores medios de cultivo para esta variable de respuesta según la forma de elección del protocolo descrito en el análisis de la información de la metodología. En los medios de cultivo DS, P7, P2 y CS se incrementó la longitud de raíces con la edad de siembra.

En la figura 15 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable longitud de raíces, notándose en ella las principales interacciones entre edad de siembra y medios de cultivo: DS – MS, MS – P7, CS – DL, DL – IL, IL – IS e IS – CL. Gráficamente se observa que todos los medios líquidos (DL, IL y CL), obtuvieron la menor longitud de raíces en comparación con los medios semisólidos, lo anterior probablemente se deba a la formación de raíces adventicias en los medios líquidos, por la posición del explante en el medio de cultivo, produciendo varias raíces en su mayoría con longitudes pequeñas, caso contrario al medio semisólido. La mayor longitud de raíces que se obtuvo en el medio de cultivo DS, probablemente se deba a la presencia de ácido giberélico al medio de cultivo (cuadro 5), debido que este regulador de crecimiento interviene en el crecimiento de las plantas ocasionando especialmente un alargamiento celular (12)

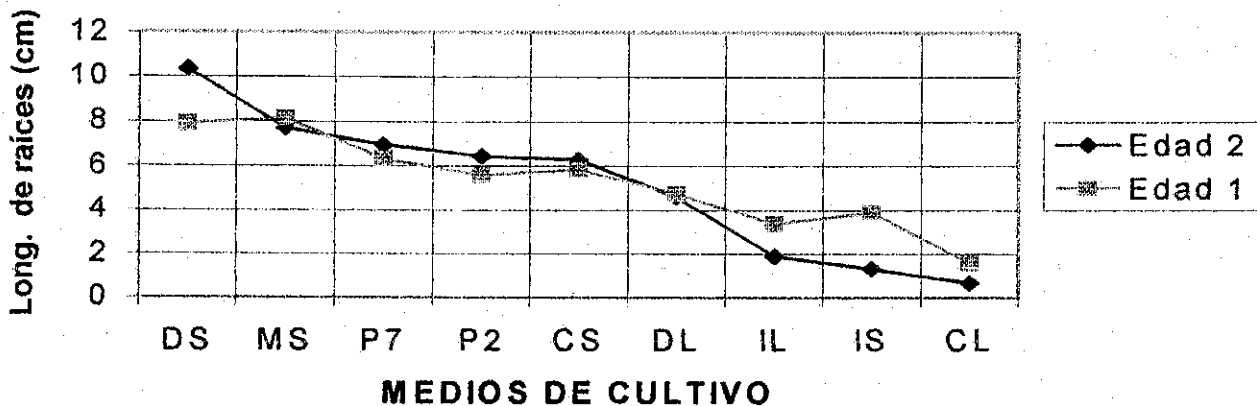


Figura 15. Longitud de raíces para la interacción edad por medio de cultivo del clon Ictafrit.

REFERENCIA: DS: Medio D del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. IL: Medio I del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido.



## 7.2 Clon loman

### 7.2.1 Altura de planta

El análisis de varianza para la variable de respuesta altura de planta en centímetros (cuadro 27), mostró diferencias altamente significativas para la triple interacción de factores edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación.

**Cuadro 27. Análisis de varianza de la variable altura de planta del clon Loman.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
E	1	544.2437	544.2437	35.78	0.0001 **
M	8	1294.3522	161.7940	10.64	0.0001 **
L	1	96.5552	96.5552	6.35	0.0123 *
E*M	8	394.5547	49.3193	3.24	0.0015 **
E*L	1	0.9386	0.9386	0.06	0.8040 NS
M*L	8	103.5995	12.9499	0.85	0.5583 NS
E*M*L	7	280.5892	40.0842	2.64	0.0119 **
ERROR	271	4122.0988	15.2107		
TOTAL	314	6688.01608			

C.V. = 47.08448

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra.

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.



= Interacción a analizar

#### 7.2.1.1 Altura de planta según la triple interacción edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 28), se determinó, que en cinco combinaciones la respuesta de los explantes del clon Loman a la altura de planta fue la mayor estadísticamente, y a la vez se describen estas combinaciones en el cuadro 28.

Según los requisitos de elección del protocolo descrito en el análisis de la información de la metodología, se establece que la combinación medio de cultivo DL con una intensidad lumínica de incubación de 1000 lux como la mejor para esta variable de respuesta, debido que la respuesta de los explantes al medio de cultivo DL, provocó un incremento en la altura de planta de 1.2 centímetros con la



En el medio de cultivo P7 la respuesta de los explantes del clon Loman, a la altura de planta fue la menor en las intensidades lumínicas de 1000 y 3000 lux para la edad de siembra 1 (figura 16); estos resultados coinciden con el experimento realizado por Ken Okabe (26), en el cual concluye que el medio de cultivo P7 contribuye a frenar la superdominancia de crecimiento para algunas variedades de papa.

La asociación explante y los medios de cultivo I y C del CIP en estado líquido con una intensidad lumínica de incubación de 1000 lux, no respondieron al crecimiento de las plantas en la edad de siembra 2 (figura 17); debido que fueron pocos los explantes del clon Loman que brotaron en la edad de siembra 1 y de éstos se extrajeron los explantes para resembrarlos (edad de siembra 2). Estos resultados probablemente se deban al fenómeno de la ósmosis, debido que cuando se coloca una célula vegetal en un medio diluido, el agua simplemente continúa entrando y expandiendo a la célula hasta que la presión de turgencia llega al punto de equilibrio; en este punto, la entrada de agua cesa de manera automática y la célula se encuentra en un estado de equilibrio de agua con el ambiente diluido, sin hincharse de modo apreciable y sin que la célula misma haga trabajo alguno (23); y a la falta de oxígeno en los explantes, ya que algunos microesquejes al ser sembrados se sumergieron completamente en el medio de cultivo líquido por el peso del explante.

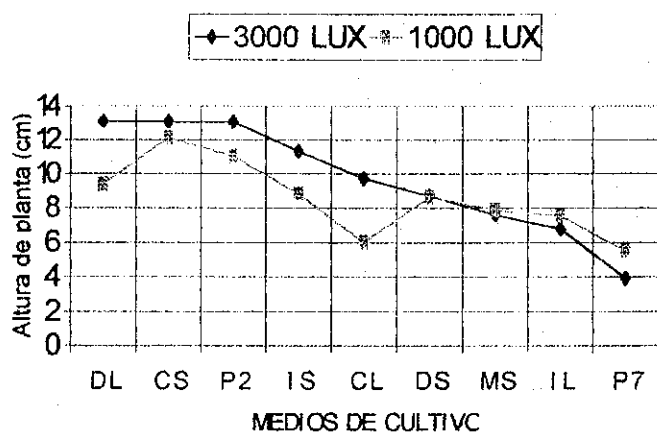


Figura 16. Altura de planta para la edad de siembra 1 con el clon Loman.

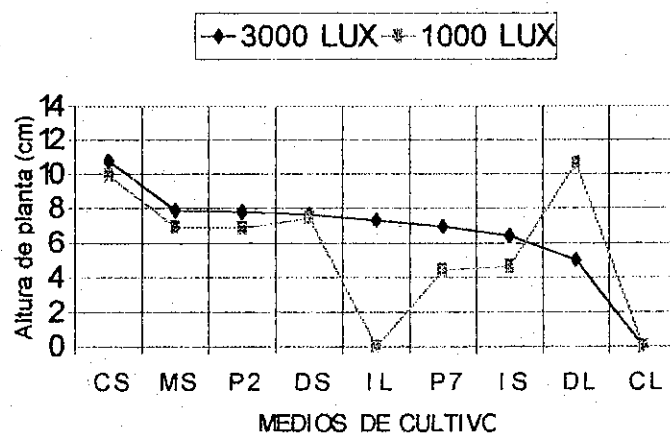


Figura 17. Altura de planta para la edad de de siembra 2 con el clon Loman.

REFERENCIA: DL: Medio D del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. IL: Medio I del CIP en estado líquido. P7: Medio desarrollado por Okabe.

### 7.2.2. Número de entrenudos

El análisis de varianza para la variable de respuesta número de entrenudos (cuadro 29), mostró diferencias altamente significativas para los factores edad de siembra, medio de cultivo, intensidad lumínica de incubación y para la triple interacción de factores edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación.

**Cuadro 29. Análisis de varianza de la variable número de entrenudos del clon Loman.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	188.5583	188.5583	36.36	0.0001 **
Medio de cultivo	8	392.2775	49.0346	9.46	0.0001 **
Luminosidad	1	62.8654	62.8654	12.12	0.0006 **
E*M	8	54.3211	6.7901	1.31	0.2387 NS
E*L	1	2.8841	2.8841	0.56	0.4565 NS
M*L	8	36.9771	4.6221	0.89	0.5242 NS
E*M*L	7	109.7479	15.6783	3.02	0.0045 **
ERROR	271	1405.3542	5.1858		
TOTAL	314	2125.4461			

C. V. = 39.72805

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra. M = Medio de cultivo. L = Luminosidad.



= Interacción a analizar

#### 7.2.2.1 Número de entrenudos según la triple interacción edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación

Con el empleo de la prueba de Duncan (cuadro 30), se determinó, que en siete combinaciones la respuesta de los explantes del clon Loman al número de entrenudos, fue la mayor estadísticamente y a la vez estas combinaciones se describen en el cuadro 30 en orden descendente.

De acuerdo a la consistencia de los resultados de la variable número de entrenudos por planta, se establece que la mayor cantidad de entrenudos por planta se obtiene con el medio de cultivo P7 a una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux, le siguen los medios de cultivo DS y MS los cuales aparecen sobre cuadros sombreados en el cuadro 30. La mayor cantidad de entrenudos que se obtuvo en el medio de cultivo P7 se debe posiblemente a la acción del compuesto ancymidol, ya que el mismo inhibe la



En las figuras 18 y 19 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable número de entrenudos por planta, notándose en ellas las distintas interacciones de intensidad lumínica de incubación entre los medios de cultivo para las edades de siembra 1 y 2.

En los medios de cultivo I y C en estado líquido con una intensidad lumínica de incubación de 1000 lux, existe una tendencia a tener menor respuesta al número de entrenudos por planta, en la edad de siembra 1; debido propablemente a razones discutidas en la variable de respuesta anterior.

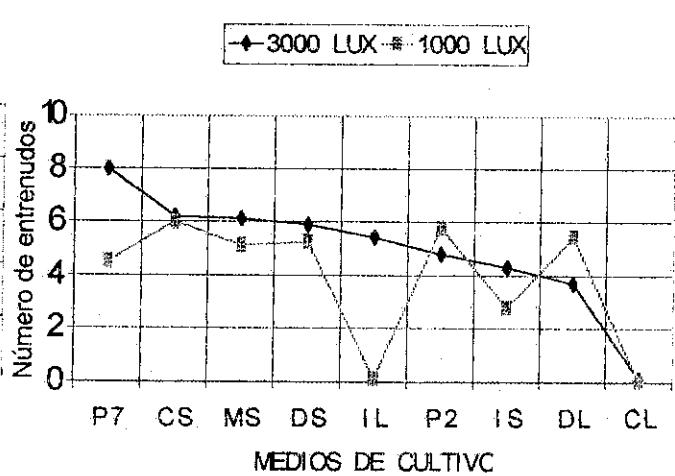
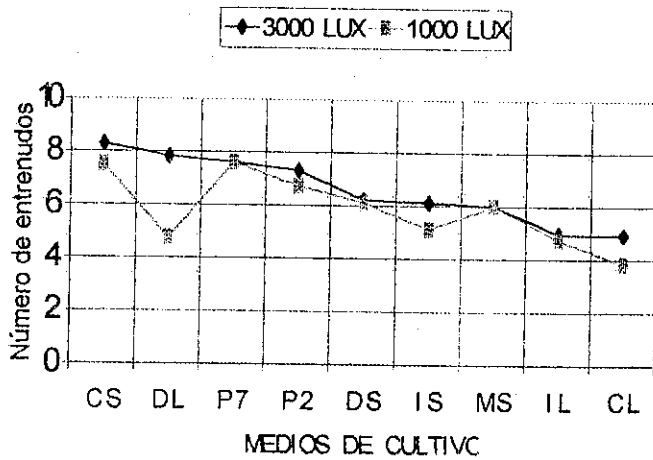


Figura 18. Número de entrenudos para la edad de siembra 1 con el clon Loman.

Figura 19. Número de entrenudos para la edad de siembra 2 con el clon Loman.

REFERENCIA: CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. IL: Medio I del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido.

### 7.2.3 Longitud de entrenudos

El análisis de varianza para la variable de respuesta longitud de entrenudos (cuadro 31), mostró diferencias altamente significativas para los factores edad de siembra y medio de cultivo y para la interacción edad de siembra por medio de cultivo. El comportamiento de los valores medios de la variable longitud de entrenudos puede apreciarse en la figura 20, y en ella puede verse las principales interacciones entre edad de siembra y los medios de cultivo: P2 - CS, CS - DS, DS - DL, MS - IL, IL - CL y CL - P7.



La mayor longitud de entrenudos se obtiene con el empleo del medio de cultivo CS y DS, como se observa en el cuadro 32 y figura 20. La altura de planta influye significativamente para obtener una mayor longitud de entrenudos como se observa en la figura 16 y 17, debido que esta variable de respuesta se obtiene dividiendo la altura de planta entre el número de entrenudos.

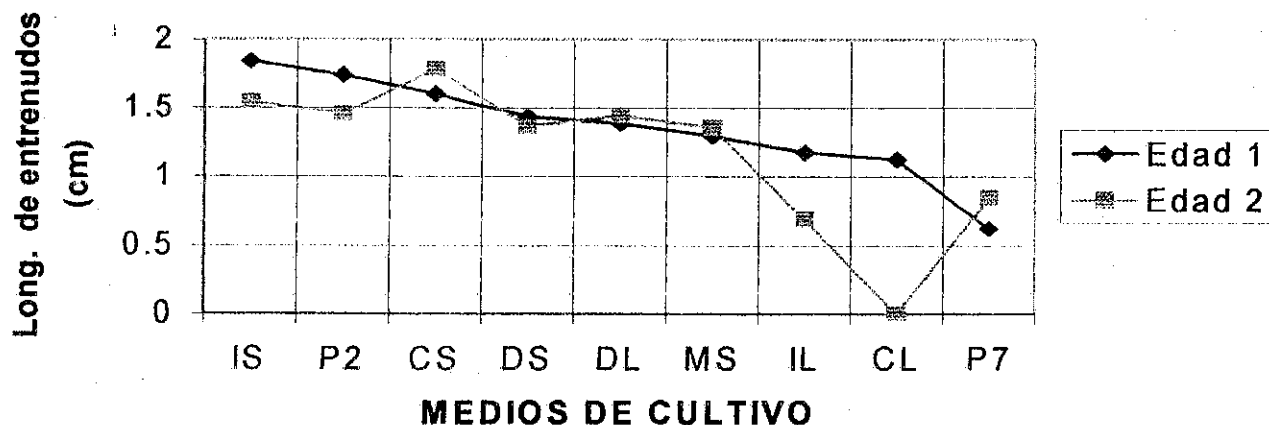


Figura 20. Longitud de entrenudos para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Loman.

REFERENCIA: IS: Medio I del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. MS: Medio de Murashige y Skoog. IL: Medio I del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. P7: Medio desarrollado por Okabe.

#### 7.2.4 Peso fresco de tallo

La variable peso fresco de tallo del clon Loman se ve afectado por los factores edad de siembra, intensidad lumínica de incubación y medio de cultivo y por la interacción edad de siembra por medio de cultivo. Lo que permite indicar que de la siembra a la resiembra de los explantes hay diferencias en la respuesta de los explantes al peso fresco de tallo; y variación en cuanto a la respuesta de los explantes a los diferentes medios de cultivo respecto al peso fresco de tallo, esto debido a diferencias en cuanto a composición química de cada medio de cultivo; y diferencias en la respuesta de los explantes a las intensidades lumínicas de incubación, ya que el crecimiento y desarrollo de las plantas depende de la cantidad de luz a las que están expuestas (6).



**Cuadro 33. Análisis de varianza de la variable peso fresco de tallo del clon Loman.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	0.4189	0.4189	23.96	0.0001 **
Medio de cultivo	8	1.3009	0.1626	9.30	0.0001 **
Luminosidad	1	0.2781	0.2781	15.91	0.0001 **
E*M	8	0.4607	0.0576	3.29	0.0013 **
E*L	1	0.0002	0.0002	0.01	0.9118 NS
M*L	8	0.0516	0.0064	0.37	0.9362 NS
E*M*L	7	0.1393	0.0199	1.14	0.3390 NS
ERROR	271	4.7387	0.0175		
TOTAL	314	7.9072			

C.V. = 78.97416

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra.

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.



= Efectos a analizar

**7.2.4.1 Peso fresco de tallo según la intensidad lumínica de incubación**

Con el empleo de la prueba de medias de Duncan (cuadro 34), se determinó que el mayor peso fresco de tallo en gramos de acuerdo al factor luminosidad, se obtuvo con el empleo de la intensidad lumínica de incubación de 3000 lux con un peso medio de tallo de 0.194 g. El menor peso fresco de tallo se dió con el uso de la intensidad lumínica de 1000 lux con una media de 0.139 g.

**Cuadro 34. Prueba de Duncan según la intensidad lumínica de incubación para la variable peso fresco de tallo del clon Loman.**

INTENSIDAD LUMINICA DE INCUBACION	Peso de tallo (g)		
3000 lux	0.194	A	
1000 lux	0.139		B

El comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de tallo puede apreciarse en la figura 21. Se observa un incremento del peso fresco de tallo al utilizar la intensidad lumínica de 3000 lux. Por lo general en las salas de cultivo de tejidos, las intensidades luminosas varían de 1000 a 5000 lux con uso muy comun de 2000 a 3000 lux.

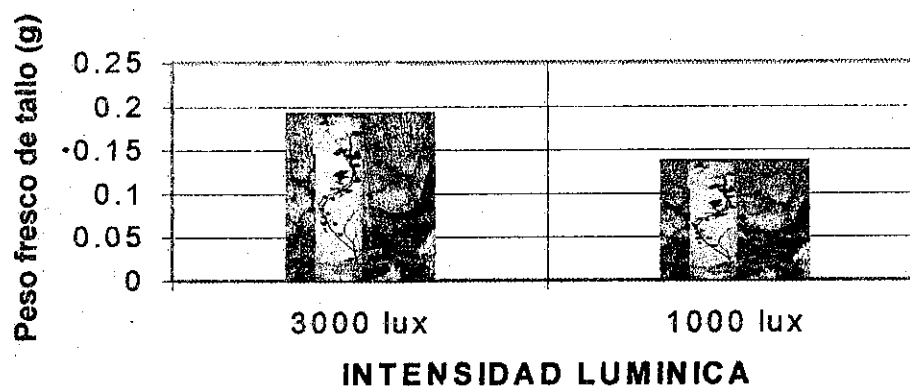


Figura 21. Comportamiento de la variable peso fresco de tallo del clon Loman según la intensidad lumínica de incubación.

#### 7.2.4.2 Peso fresco de tallo según la interacción edad de siembra por medio de cultivo

Con el empleo de la prueba de medias de Duncan (cuadro 35) se determinó, que en las combinaciones edad de siembra 1 por medio de cultivo DL y edad de siembra 1 por medio de cultivo CL la respuesta de los explantes del clon Loman al peso fresco de tallo, fue la mayor estadísticamente y a la vez estas combinaciones se describen en el cuadro 35 en orden descendente.

Cuadro 35. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción edad de siembra por medio de cultivo para la variable peso fresco de tallo del clon Loman.

TRATAMIENTOS (Edad de siembra, medio de cultivo)	Peso de tallo (g)							
Edad de siembra 1, medio de cultivo DL	0.366	A						
Edad de siembra 1, medio de cultivo CL	0.359	A						
Edad de siembra 1, medio de cultivo CS	0.239		B					
Edad de siembra 1, medio de cultivo P2	0.206		B	C				
Edad de siembra 2, medio de cultivo CS	0.203		B	C				
Edad de siembra 2, medio de cultivo DL	0.197		B	C				
Edad de siembra 2, medio de cultivo P7	0.166			C	D			
Edad de siembra 1, medio de cultivo P7	0.159			C	D	E		
Edad de siembra 1, medio de cultivo IL	0.148			C	D	E		
Edad de siembra 2, medio de cultivo P2	0.126				D	E		
Edad de siembra 1, medio de cultivo DS	0.115				D	E		
Edad de siembra 1, medio de cultivo MS	0.103				D	E	F	
Edad de siembra 2, medio de cultivo MS	0.100				D	E	F	
Edad de siembra 2, medio de cultivo IL	0.100				D	E	F	
Edad de siembra 2, medio de cultivo DS	0.097					E	F	
Edad de siembra 1, medio de cultivo IS	0.096						F	
Edad de siembra 2, medio de cultivo IS	0.037						F	
Edad de siembra 2, medio de cultivo CL	0.000							G

Como se observa en la figura 22, el mayor peso fresco de tallo se obtiene en la edad de siembra 1 con los medios de cultivo D y C del CIP en estado líquido; la mayor respuesta, en estos medios de cultivo probablemente se deba a la facilidad de absorción de nutrientes en el medio líquido; pero en los mencionados medios de cultivo los resultados de peso fresco de tallo no fueron consistentes estadísticamente a través de las edades de siembra, mientras que en el medio de cultivo CS los resultados de peso fresco de tallo fueron consistentes estadísticamente aunque clasificados en el segundo grupo según la prueba de medias de Duncan (cuadro 35), por lo que se considera el mejor medio de cultivo para esta variable de respuesta por su consistencia. El medio de cultivo P7 fue el único medio en que el peso de tallo se incrementó con la edad de siembra.

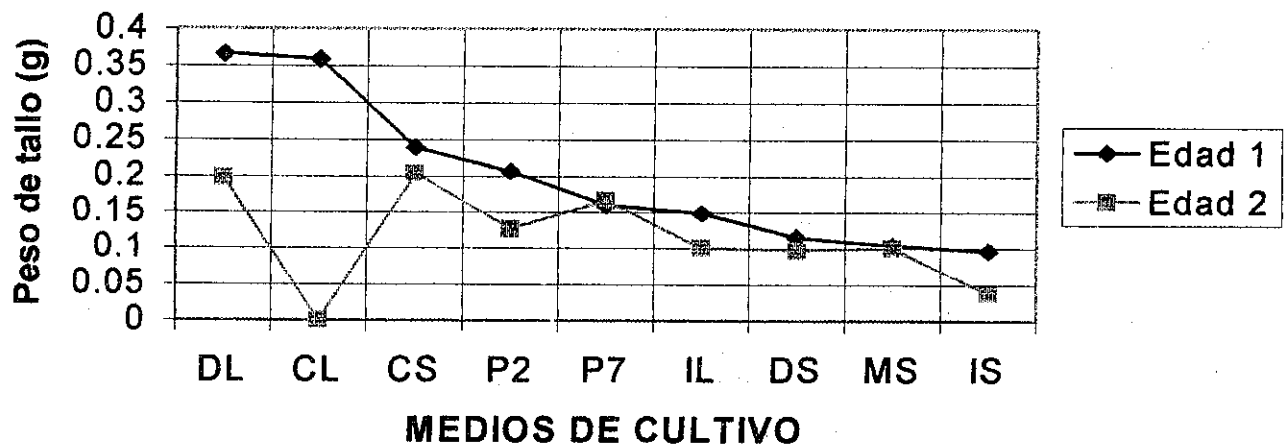


Figura 22. Peso fresco de tallo para la interacción edad de siembra por medio de cultivo con el clon Loman.

REFERENCIA: DL: Medio D del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. P7: Medio desarrollado por Okabe. IL: Medio I del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. IS: Medio I del CIP estado semisólido.

### 7.2.5 Peso fresco de raíz

El comportamiento de la variable peso fresco de raíces se ve afectado por los factores edad de siembra, intensidad lumínica y medio de cultivo y por las interacciones edad de siembra por medio de cultivo y medio de cultivo por intensidad lumínica. Se observa que de la siembra a la resiembra de los explantes hay diferencias en cuanto al peso de raíces, por lo que se dice que esta variable es consistente en su respuesta con relación a las edades de siembra. En los medios de cultivo hubo una variación en los resultados, esto se debe probablemente a diferencias de composición química de cada medio de cultivo; con relación a la



En la figura 23 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de raíces, notándose en ella las principales interacciones de edad de siembra por medios de cultivo: CS - CL, CL - MS, MS - DL y DL - DS.

Seleccionando el medio de cultivo en el cual los resultados sean consistentes estadísticamente o con un rango cercano al mismo en cuanto al mayor peso fresco de raíces, al respecto se seleccionó el medio de cultivo P7 como el medio de cultivo en el cual se obtiene el mayor peso fresco de raíces en las edades de siembra 1 y 2; y el medio de cultivo P2 como el segundo mejor medio de cultivo con respecto al mayor peso fresco de raíces pero el mejor en cuanto a su consistencia en los resultados (cuadro 37).

La alta respuesta de este medio de cultivo al peso fresco de raíces posiblemente se le atribuye al compuesto químico ancymidol, ya que es el único compuesto que diferencia el medio de cultivo P7 del medio de cultivo P2 (cuadro 5) y sus funciones (26,28), se reflejan en los resultados obtenidos que fueron: la reducción de la altura de planta como puede verse en la figura 16 y una disminución de la distancia de entrenudos como puede observarse en la figura 20; debido a estos resultados probablemente el ancymidol influye en el aumento del peso de raíces para el clon Loman.

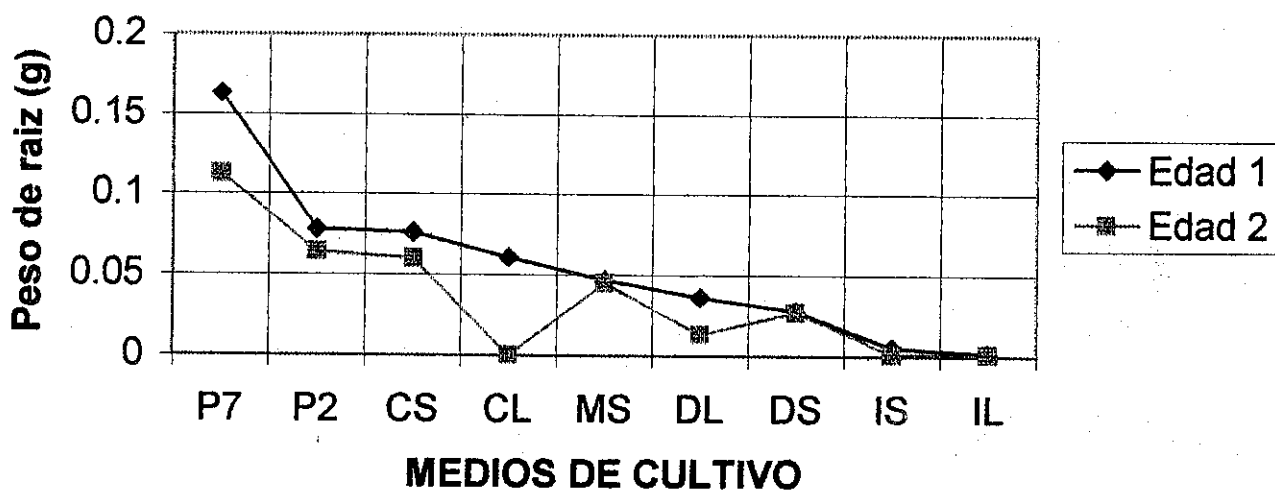


Figura 23. Peso fresco de raíces para la interacción edad de siembra por medio de cultivo del clon Loman.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. MS: Medio de Murashige y Skoog. DL: Medio D del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido.

Gráficamente se observa en la figura 23, que el medio de cultivo I del CIP en estado líquido y semisólido en las dos edades de siembra, obtuvo el menor peso fresco de raíces en el clon Loman. Estos resultados se atribuyen a la mayor cantidad de citocininas (BAP = 0.5 mg/l) que auxinas (ANA = 0.01 mg/l) presentes en el medio de cultivo (cuadro 5), ya que al presentarse una relación mayor de citocininas que auxinas en el medio de cultivo inhiben la formación de raíces en el explante (29).

#### 7.2.5.2 Peso fresco de raíz según la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica

Utilizando la prueba de medias de Duncan (cuadro 38), se determinó, que en la combinación medio de cultivo P7 y luminosidad de 3000 lux, la respuesta de los explantes del clon Loman al peso fresco de raíces, fue la mayor estadísticamente, con una media de 0.179 gramos.

**Cuadro 38. Prueba de Duncan al 5 %, para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación para la variable peso fresco de raíces del clon Loman.**

TRATAMIENTOS (medio de cultivo, intensidad lumínica)	Peso de raíz (g)								
Medio de cultivo P7, intensidad lumínica 3000 lux	0.179	A							
Medio de cultivo P2, intensidad lumínica 3000 lux	0.105		B						
Medio de cultivo P7, intensidad lumínica 1000 lux	0.101		B						
Medio de cultivo CS, intensidad lumínica 3000 lux	0.097		B						
Medio de cultivo MS, intensidad lumínica 3000 lux	0.061			C					
Medio de cultivo CL, intensidad lumínica 3000 lux	0.059			C	D				
Medio de cultivo CL, intensidad lumínica 1000 lux	0.044			C	D	E			
Medio de cultivo CS, intensidad lumínica 1000 lux	0.040				D	E			
Medio de cultivo DS, intensidad lumínica 3000 lux	0.037					E	F		
Medio de cultivo P2, intensidad lumínica 1000 lux	0.036					E	F		
Medio de cultivo MS, intensidad lumínica 1000 lux	0.030					E	F		
Medio de cultivo DL, intensidad lumínica 3000 lux	0.029					E	F		
Medio de cultivo DL, intensidad lumínica 1000 lux	0.024					E	F	G	
Medio de cultivo DS, intensidad lumínica 1000 lux	0.020						F	G	H
Medio de cultivo IS, intensidad lumínica 3000 lux	0.004							G	H
Medio de cultivo IL, intensidad lumínica 1000 lux	0.003								H
Medio de cultivo IS, intensidad lumínica 1000 lux	0.002								H
Medio de cultivo IL, intensidad lumínica 3000 lux	0.002								H

El comportamiento de los valores medios de la variable peso fresco de raíces puede apreciarse en la figura 24, y en ella se observan las principales interacciones de intensidad lumínica de incubación entre los medios de cultivo: CS – MS, MS – CL y DS – DL.

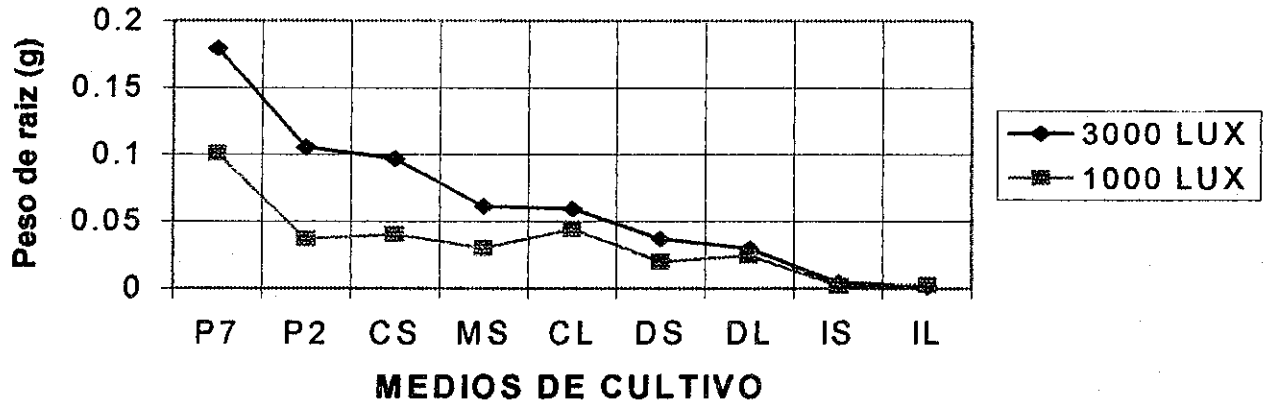


Figura 24. Peso fresco de raíces para la interacción medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación con el clon Loman.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. CL: Medio C del CIP en estado líquido. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido.

Se observa un incremento del peso fresco de raíces con la combinación medio de cultivo P7 a una intensidad lumínica de 3000 lux con una media en el peso fresco de raíces de 0.179 gramos. Con la intensidad lumínica de 3000 lux se obtiene el mayor peso de raíces en la mayoría de los medios de cultivos, a excepción del medio de cultivo IL.

### 7.2.6 Número de raíces

El análisis de varianza para la variable de respuesta número de raíces (cuadro 39), mostró diferencias altamente significativas para los factores medio de cultivo y luminosidad y para las interacciones edad de siembra por medio de cultivo y medio de cultivo por intensidad lumínica y edad de siembra por intensidad lumínica por medio de cultivo como se observa en el siguiente cuadro.

**Cuadro 39. Análisis de varianza de la variable número de raíces del clon Loman.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	6.8562	6.8562	0.59	0.4419 NS
Medio de cultivo	8	1690.2294	211.2787	18.28	0.0001 **
Luminosidad	1	144.2190	144.2190	12.48	0.0005 **
E*M	8	268.7145	33.5893	2.91	0.0040 **
E*L	1	2.2279	2.2279	0.19	0.6610 NS
M*L	8	353.8989	44.2373	3.83	0.0003 **
E*M*L	7	311.4078	44.4868	3.85	0.0005 **
ERROR	271	3132.6933	11.5597		
TOTAL	314	6051.9873			

C.V. = 61.26937

\*\* diferencias altamente significativas

\* diferencias significativas

NS No significativo

E = Edad de siembra.

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.



= Interacción a analizar

### 7.2.6.1 Número de raíces según la triple interacción edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación

Utilizando la prueba de medias de Duncan (cuadro 40), se determinó que la mayor cantidad de raíces se obtuvo con la combinación edad de siembra 2 por medio de cultivo P7 por intensidad lumínica de 3000 lux y el número de raíces para este tratamiento fue de 16.1.

De acuerdo a la forma de elección del protocolo descrito en la metodología, se seleccionó el mejor medio de cultivo para esta variable de respuesta. Al respecto se seleccionó el medio de cultivo P7 a una intensidad lumínica de 3000 lux como el mejor medio de cultivo para esta variable, como se observa en una forma sombreada en el cuadro 40 y gráficamente en las figuras 25 y 26. La alta respuesta de este medio de cultivo al mayor número de raíces del clon Loman, se debe presumiblemente al compuesto ancymidol, que ya fue discutido en el parrafo cuarto de la literal 7.2.5.1.

En el medio de cultivo P7 se observó un incremento significativo en el número de raíces con la edad de siembra (edad de siembra 2), probablemente se deba a la adaptación de explante al medio de cultivo P7, debido a resultados similares que se obtuvieron en las variables altura de planta, número de entrenudos, longitud de entrenudos y peso fresco de tallo en el clon Loman.



Cuadro 40. Prueba de Duncan al 5 %, para la triple interacción de factores para la variable número de raíces del clon Loman.

TRATAMIENTOS	Número de Raíces																		
Edad 2, medio de cultivo P7, int. lumínica 3000 lux	16.1	A																	
Edad 1, medio de cultivo P7, int. lumínica 3000 lux	9.4	B																	
Edad 2, medio de cultivo DL, int. lumínica 1000 lux	8.8	B	C																
Edad 1, medio de cultivo DL, int. lumínica 3000 lux	8.3	B	C	D															
Edad 2, medio de cultivo MS, int. lumínica 3000 lux	8.1	B	C	D	E														
Edad 2, medio de cultivo P2, int. lumínica 3000 lux	7.9	B	C	D	E	F													
Edad 1, medio de cultivo CL, int. lumínica 3000 lux	7.2			C	D	E	F	G											
Edad 1, medio de cultivo CS, int. lumínica 3000 lux	7.2			C	D	E	F	G											
Edad 1, medio de cultivo P7, int. lumínica 1000 lux	7.1			C	D	E	F	G											
Edad 1, medio de cultivo MS, int. lumínica 3000 lux	7.0			C	D	E	F	G	H										
Edad 2, medio de cultivo MS, int. lumínica 1000 lux	7.0			C	D	E	F	G	H										
Edad 2, medio de cultivo P7, int. lumínica 1000 lux	6.5				D	E	F	G	H	I									
Edad 2, medio de cultivo DS, int. lumínica 3000 lux	6.4					E	F	G	H	I									
Edad 1, medio de cultivo DL, int. lumínica 1000 lux	6.3					E	F	G	H	I	J								
Edad 2, medio de cultivo CS, int. lumínica 3000 lux	6.3					E	F	G	H	I	J								
Edad 1, medio de cultivo P2, int. lumínica 3000 lux	6.1						F	G	H	I	J								
Edad 1, medio de cultivo MS, int. lumínica 1000 lux	5.8							G	H	I	J								
Edad 1, medio de cultivo CL, int. lumínica 1000 lux	5.4								G	H	I	J	K						
Edad 1, medio de cultivo CS, int. lumínica 1000 lux	5.2									H	I	J	K						
Edad 2, medio de cultivo CS, int. lumínica 1000 lux	5.0										I	J	K						
Edad 1, medio de cultivo DS, int. lumínica 3000 lux	4.9										I	J	K						
Edad 2, medio de cultivo DS, int. lumínica 1000 lux	4.8										I	J	K						
Edad 1, medio de cultivo P2, int. lumínica 1000 lux	4.7										I	J	K						
Edad 1, medio de cultivo DS, int. lumínica 1000 lux	4.5											j	K						
Edad 2, medio de cultivo P2, int. lumínica 1000 lux	3.9												k	L					
Edad 1, medio de cultivo IS, int. lumínica 1000 lux	2.3														L	M			
Edad 1, medio de cultivo IS, int. lumínica 3000 lux	2.3														L	M			
Edad 2, medio de cultivo DL, int. lumínica 3000 lux	2.1															M			
Edad 2, medio de cultivo IS, int. lumínica 3000 lux	2.1															M			
Edad 1, medio de cultivo IL, int. lumínica 3000 lux	1.6															M	N		
Edad 2, medio de cultivo IS, int. lumínica 1000 lux	1.4															M	N	O	
Edad 2, medio de cultivo IL, int. lumínica 3000 lux	1.2															M	N	O	
Edad 1, medio de cultivo IL, int. lumínica 1000 lux	1.1																N	O	
Edad 2, medio de cultivo CL, int. lumínica 3000 lux	0.0																N	O	
Edad 2, medio de cultivo IL, int. lumínica 1000 lux.	0.0																	O	

En las figuras 25 y 26 puede apreciarse el comportamiento de los valores medios de la variable número de raíces por planta para las edades de siembra 1 y 2, notándose en ellas las distintas interacciones de intensidad lumínica de incubación entre los medios de cultivo para las edades de siembra 1 y 2.

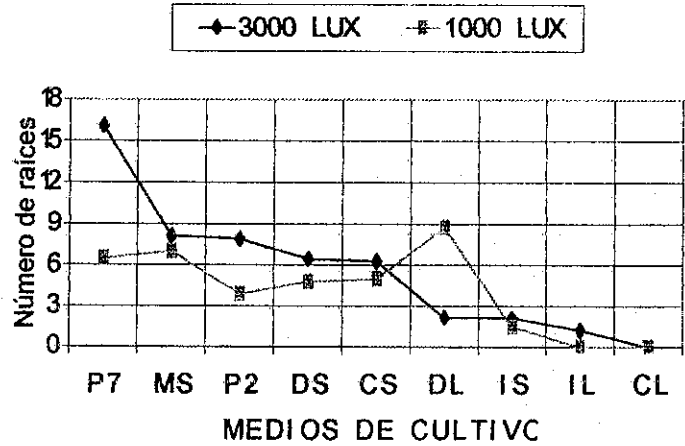
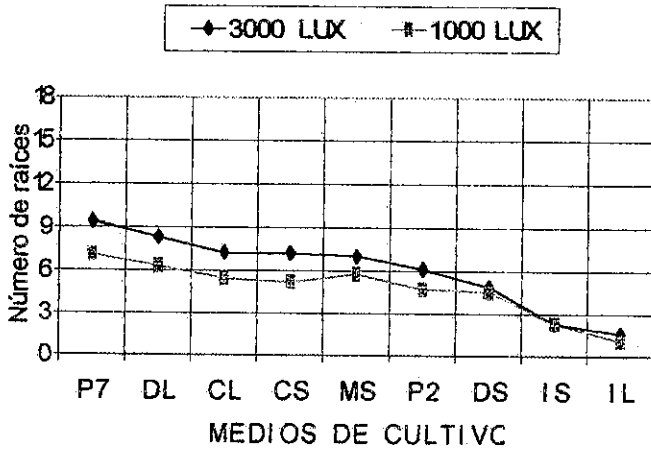


Figura 25. Número de raíces para la edad de siembra 1 con el clon Loman. Figura 26. Número de raíces para la edad de siembra 2 con el clon Loman.

REFERENCIA: P7: Medio desarrollado por Okabe. DL: Medio D del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. MS: Medio de Murashige y Skoog. P2: Medio desarrollado por Okabe. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido.

### 7.2.7 Longitud de raíces

El comportamiento de la longitud de raíces del clon Loman es afectado por los factores edad de siembra, intensidad lumínica de incubación y medio de cultivo y por las interacciones edad de siembra por medio de cultivo y edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica. Análizando los factores por separado, nos indica que de la siembra a la resiembra de los explantes del clon Loman hay diferencias en cuanto a la respuesta de los explantes a la longitud de raíces respecto a la edad de siembra. En cuanto a medios de cultivo, la variación en los resultados se debe probablemente a diferencias de composición química de cada medio de cultivo; con relación a la intensidad lumínica de incubación, las diferencias de respuesta de los explantes a la variable, se debe presumiblemente a la cantidad de energía luminosa recibida, debido que la luz es indispensable para regular ciertos procesos morfogénicos como lo comprueban numerosos estudios (30,31).

**Cuadro 41. Análisis de varianza de la variable longitud de raíces del clon Loman.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Edad de siembra	1	37.8133	37.8133	15.59	0.0001 **
Medio de cultivo	8	1026.2342	128.2793	52.89	0.0001 **
Luminosidad	1	22.4379	22.4379	9.25	0.0026 **
E*M	8	50.6302	6.3288	2.61	0.0092 **
E*L	1	1.9384	1.9384	0.80	0.3721 NS
M*L	8	17.1990	2.1499	0.89	0.5283 NS
E*M*L	7	49.7981	7.1140	2.93	0.0056 **
ERROR	271	657.2724	2.4253		
TOTAL	314	1938.9160			

C.V. = 37.43646,

NS = No significativo

\*\* = diferencias altamente significativas.

E = Edad de siembra.

M = Medio de cultivo.

L = Luminosidad.

 = Interacción a analizar

### 7.2.7.1 Longitud de raíces según la triple interacción: edad de siembra por medio de cultivo por intensidad lumínica de incubación

Utilizando la prueba de medias de Duncan (cuadro 42), se determinó, que en las combinaciones edad de siembra 1 por medio de cultivo MS por intensidad lumínica 3000 lux, edad de siembra 1 por medio de cultivo MS por intensidad lumínica 1000 lux, edad de siembra 2 por medio de cultivo MS por intensidad lumínica 3000 lux y edad de siembra 2 por medio de cultivo DS por intensidad lumínica 3000 lux, la respuesta de los explantes del clon Loman a la longitud de raíces, fue la mayor estadísticamente.

El comportamiento de los valores medios de la variable longitud de raíces puede apreciarse en las figuras 27 y 28, y en ellas puede observarse las distintas interacciones de intensidad lumínica entre los medios de cultivo para las edades de siembra 1 y 2. La asociación explante y medios de cultivo I y C en estado líquido en la edad de siembra 2, no respondieron a la variable de respuesta (figura 28), debido a que fueron pocos los explantes del clon Loman que brotaron en la edad de siembra 1 (figura 27) y de éstos se extrajeron los explantes para resembrarlos, lo que constituyó la edad de siembra 2; probablemente se deba a la falta de oxígeno en los explantes ya que algunos microesquejes al ser sembrados, se sumergieron completamente en el medio de cultivo líquido por el peso del explante.



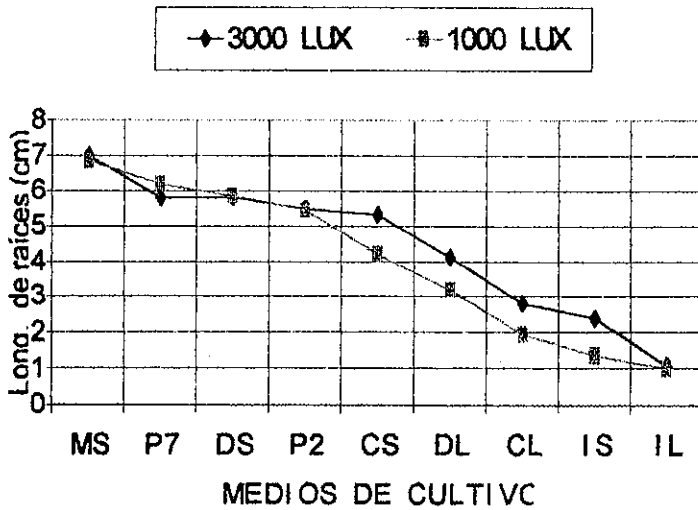


Figura 27. Longitud de raíces para la edad de siembra 1 con el clon Loman.

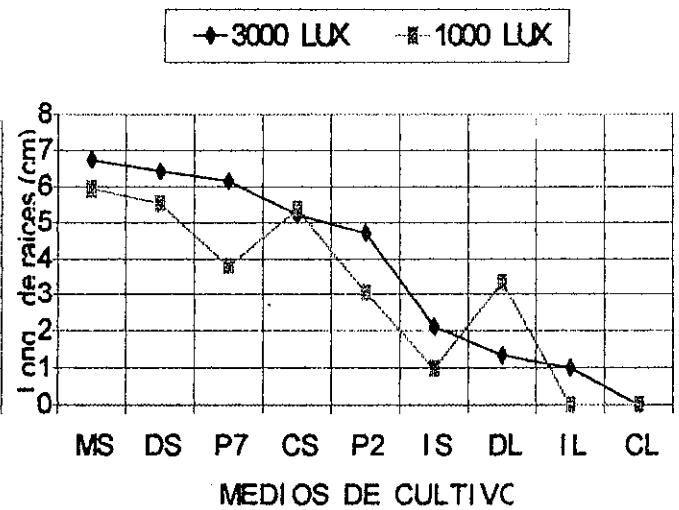


Figura 28. Longitud de raíces para la edad siembra 2 con el clon Loman.

REFERENCIA: MS: Medio de Murashige y Skoog. P7: Medio desarrollado por Okabe. DS: Medio D del CIP en estado semisólido. P2: Medio desarrollado por Okabe. CS: Medio C del CIP en estado semisólido. DL: Medio D del CIP en estado líquido. CL: Medio C del CIP en estado líquido. IS: Medio I del CIP en estado semisólido. IL: Medio I del CIP en estado líquido.

## 8. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo el experimento se llegó a las siguientes conclusiones:

- 8.1 El medio de cultivo MS, modificado por el CIP, más los suplementos de ácido fólico, agua de coco, L-arginina-HCl, pantotenato de calcio y putrescina-HCl (medio de cultivo CS), con una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux, induce una mayor respuesta en las variables: altura de planta, número de entrenudos y peso fresco de tallo en el clon Ictafrit.
- 8.2 El medio de cultivo MS, modificado por el CIP, más el suplemento de ácido giberélico (medio de cultivo DS), con una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux; induce una mayor respuesta en las variables: número de entrenudos y longitud de entrenudos en el clon Loman.
- 8.3 El medio de cultivo MS, modificado por el CIP, más los suplementos de ácido fólico, agua de coco, L-arginina-HCl, pantotenato de calcio y putrescina-HCl (medio de cultivo CS), con una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux, induce un mayor peso fresco de tallo en el clon Loman.
- 8.4 El medio de cultivo constituido por los macronutrientes de Ken Okabe, micronutrientes de Murashige y Skoog y vitaminas de Gamborg B5, más los suplementos de agua de coco, L-arginina-HCl, ácido fólico, pantotenato de calcio, putrescina-HCl y ancymidol (medio de cultivo P7), con una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux, induce una mayor respuesta en las variables: peso fresco de raíces y número de raíces en los clones Ictafrit y Loman.
- 8.5 Los clones Ictafrit y Loman presentan una mayor longitud de raíces con el medio de cultivo MS de Murashige y Skoog con una intensidad lumínica de incubación de 3000 lux.

## 9. RECOMENDACIONES

De acuerdo con la experiencia obtenida se recomienda lo siguiente:

- 9.1 Se recomienda utilizar el medio de cultivo CS del CIP, para la siembra y resiembra del clon Ictafrit, a una intensidad lumínica de 3000 lux para la fase de multiplicación. Combinación que obtuvo el mejor resultado en las variables: altura de planta, número de entrenudos, peso fresco de tallo y con una adecuada longitud de entrenudos.
- 9.2 Se recomienda utilizar el medio de cultivo DS del CIP, para la siembra y resiembra del clon Loman, a una intensidad lumínica de 3000 lux, para la fase de multiplicación. Combinación que obtuvo el mejor resultado en las variables: número de entrenudos y longitud de entrenudos.
- 9.3 Se recomienda utilizar el medio de cultivo P7 de Okabe, para la siembra de los clones Ictafrit y Loman, a una intensidad lumínica de 3000 lux para la fase de enraizamiento y preparación para su trasplante. Combinación que obtuvo el mejor resultado en las variables: peso fresco de raíces, número de raíces y con una adecuada longitud de raíces.
- 9.4 Se sugiere realizar investigaciones en los clones Ictafrit y Loman, evaluando diferentes concentraciones del compuesto ancymidol del medio de cultivo P7, ya que el mismo interviene en el comportamiento de la altura de planta y formación de raíces. Debido a que resultó ser un medio de cultivo adecuado para el trasplante por producir excelentes raíces, pero no así para la fase de multiplicación por su baja altura de planta; por lo que puede servir también para conservación de germoplasma.

## 10. BIBLIOGRAFIA

1. CABRERA LINARES, P.V. 1993. Evaluación de tratamientos botánicos en el control de tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) en el cultivo de la Papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Loman, en la aldea Sacsiguam Sololá. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 17 p.
2. DODDS, J.H.; LORIN, W.R. 1985. Experiments in plant tissue culture. 2 ed. New York, EE.UU., Cambridge University Press. 232 p.
3. ELCID, A. 1992. El cultivo de la papa en Guatemala. Guatemala, CIP-ICTA. Desarrollo de productos de raíces y tuberculos. v. II, 31 p.
4. ESPINOSA, N. et al. 1992. Cultivo de tejidos: Micropropagación, conservación y exportación de germoplasma de papa. Guía de investigación CIP, (Perú) no. 1:1-19.
5. FUNDAMENTOS TEORICO-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. 1990. ed. por C.H. Rossel; V.M. Villalobos. Roma, FAO. Producción y protección vegetal 105, s.p.
6. GEORGE, E.F. 1933. Plant propagation by tissue culture. 2 ed. EE. UU., editorial exegetics limited. pt. 1, 574 p.
7. GUATEMALA. INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS. 1977. El cultivo de la papa en Guatemala. Guatemala. Folleto Técnico no. 6, p. 1-23.
8. HANDBOOK OF plant cell culture. 1984. ed. por D.A. Evans. et al. New York, EE.UU., Macmillan. v.3, 620 p.
9. HERNANDEZ, A. 1998. Características generales de la variedad Ictafrit. Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. (Comunicación personal).
10. HERNANDEZ DAVILA, A.G. 1982. Determinación de tamaño óptimo de parcela para estudios experimentales en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 61 p.



11. HORTON, D.E. 1988. Las papas en los países en desarrollo. ed. por Nelson Estrada. Asociación Latinoamericana de la Papa. Revista Latinoamericana de la Papa. (Perú) 1(1):9-15.
12. KRIKORIAN, A.D. 1991. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In cultivo de tejidos en la agricultura, Fundamentos y aplicaciones. ed. William Roca; Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. p. 41-69.
13. -----, 1991. Propagación clonal in vitro. In cultivo de tejidos en la agricultura, Fundamentos y aplicaciones. ed. William Roca; Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. p. 95-125.
14. LIZARRAGA, R. et al. 1987. Cultivo de tejidos para la eliminación de patógenos. Guía de investigación CIP (Perú) no. 3:1-23.
15. MARTIN, C. 1985. La multiplicación de las plantas en probeta. Mundo Científico (España) no. 44:160-169.
16. MONTALDO, A. 1984. Cultivo y mejoramiento de la papa. ed. por M. M. De la Cruz; F. De la Torre. San José, C.R., Editorial texto. 676 p.
17. MROGINSKI, L.A.; ROCA, W.M. 1991. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. In cultivo de Tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones. ed. William Roca; Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. p. 19-40.
18. MURASHIGE, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant. Physiol. (s.l.) 25:135-166.
19. OKABE, K. 1997. Informe final 1995-1997. Región I; Bárcenas: Villa Nueva; Guatemala. Guatemala, s.n. 88 p.
20. PEREA, M.; NAVARRO, A.W. 1988. Técnicas in vitro. Costa Rica, Universidad Nacional Costa Rica. 105 p.
21. PLANT, A.; HERNANDEZ, A. 1990. Tercer curso, prácticas para producción. Guatemala, Federación de Cooperativas Agrícolas Regionales. s.p.
22. PLANT CELL and tissue culture. 1994. ed. por I.K. Vasil, T.A. Thorpe. Boston, EE. UU., Kluwer academic. p. 362-372.

23. RAY, P.M. 1980. La planta viviente. Trad. por Antonio Marino Ambrosio. 7 ed. México, Continental. 272 p.
24. SHIIDE-RENTSCHLER, L.; SHMIEDICHE, P.E. 1984. El cultivo de tejidos, su pasado, presente y futuro. CIP, Circular (Perú) 12(1):12.
25. SIGMA. 1997. Catalogue biochemicals and reagents for life science research. USA. 1774 p.
26. SIMPOSIO NACIONAL SOBRE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES. (1., 1996, GUATEMALA). 1996. Estabilización del protocolo de micropropagación y microtuberización para tres variedades de papa (*Solanum tuberosum* L). Ken Okabe. Guatemala, s.n. p. 26-36.
27. THORPE, T.A. 1980. Organogenesis in vitro: structural, physiological and biochemical aspects. Nueva York, EE. UU., Academic Press. p. 71-111.
28. TSAY, H.S. 1996. Plant tissue culture techniques; plant growth retardants. Taichung, Taiwan. s.p.
29. USUI, K. et al. 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. ed. por R.V. Pernillo; A.E. Ramírez. Guatemala, ICTA-JOCV. 166 p.
30. VIDALLIE, H. 1986. Cultivo in vitro. Trad. por Ma. Eugenia de Aragon Espejo. México D.F., Editorial Científica. p. 43-51.
31. VILLALOBOS A, V.M.; THORPE, T.A. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In cultivo de tejidos en la agricultura, Fundamentos y aplicaciones. ed. William Roca; Luis A. Mrogniski. Colombia, CIAT. p. 127-141.
32. ZUÑIGA CASTILLO, B.M. 1990. Producción de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L. v.r. Loman), libres de los virus X, Y, y S, a través del cultivo de meristemas y el uso de termoterapia aplicada a plantas enfermas con estos virus. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 70 p.



Vº. Bº.

María De La Roca

**APENDICE**

11

12



Cuadro 43A. Temperatura en las camas de crecimiento a una intensidad lumínica de 1000 lux.

SIEMBRA Día	TEMPERATURA		
	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
1	25	22	23.5
2	25	22	23.5
3	25	22	23.5
4	24.4	22	23.2
5	24.3	19	21.65
6	24	17.8	20.9
7	23	18	20.5
8	23.3	19	21.15
9	21.3	15.7	18.5
10	21.1	14.8	17.95
11	22.9	16.8	19.85
12	23.2	17.8	20.5
13	23.1	16.7	19.9
14	22.8	16.1	19.45
15	22.8	16	19.4
16	23.1	16	19.55
17	23.2	16.1	19.65
18	22	16	19
19	22.1	16.1	19.1
20	22.4	16.9	19.65
21	22.8	17	19.9
22	25.7	18.8	22.25
23	26.3	19.9	23.1
24	25.9	20.4	23.15
25	25.4	19	22.2
26	26.8	20.1	23.45
27	26.9	20.8	23.85
28	27.2	21.8	24.5
29	28.1	20.3	24.2
30	27.9	20.6	24.25
31	27	21	24
32	27.7	20	23.85
33	27.2	20.1	23.65
34	25.8	20	22.9
35	24.8	18	21.4
36	25	19	22
37	24.2	18	21.1
38	26.3	20.1	23.2
39	26.2	21	23.6
40	25.3	21	23.15
MEDIA	24.66	18.84	21.75

RESIEMBRA Día	TEMPERATURA		
	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
1	27	21	24
2	27.7	20	23.85
3	27.2	20.1	23.65
4	25.8	20	22.9
5	24.8	18	21.4
6	25	19	22
7	24.2	18	21.1
8	26.3	20.1	23.2
9	26.2	21	23.6
10	25.3	21	23.15
11	25.1	20	22.55
12	26.8	20	23.4
13	26.9	20.2	23.55
14	26.8	20.9	23.85
15	25.9	21	23.45
16	26.4	19.6	23
17	25.5	19.5	22.5
18	25	20	22.5
19	25	20.6	22.8
20	23.7	19.3	21.5
21	24.1	17.9	21
22	23.9	17.7	20.8
23	23	17.8	20.4
24	20.7	17	18.85
25	22	16	19
26	21.7	16.7	19.2
27	21	17.8	19.4
28	22.2	16	19.1
29	22	15.1	18.55
30	21	15	18
31	22.8	17.8	20.3
32	24.5	19	21.75
33	26.3	20	23.15
34	26	20	23
35	24.5	20	22.25
36	25.1	19.7	22.4
37	23.8	16.8	20.3
38	25	19.8	22.4
39	21	16	18.5
40	23	17.9	20.45
MEDIA	24.5	18.83	21.67

**Cuadro 44A. Temperatura en las camas de crecimiento a una intensidad lumínica de 3000 lux.**

SIEMBRA Día	TEMPERATURA		
	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
1	23.2	17.9	20.75
2	23.2	17.9	20.55
3	23.5	18.6	21.05
4	23.3	18.4	20.85
5	23	18.8	20.9
6	23.5	18	20.75
7	23	18.1	20.55
8	23	19	21
9	21.2	16.4	18.8
10	22	20	21
11	23.1	17.9	20.5
12	24.5	18.8	21.65
13	23.4	18	20.7
14	23	18.9	20.95
15	22.4	17.7	20.05
16	22.9	17.1	20
17	23	17.3	20.15
18	22.3	17	19.65
19	22.3	16.5	19.4
20	22	17	19.5
21	22.4	17	19.7
22	24.9	18.9	21.9
23	25.2	19.8	22.5
24	24.8	20.1	22.45
25	24	18.7	21.35
26	25.8	20.8	23.3
27	27.2	21.2	24.2
28	27.8	22	24.9
29	28.4	21.2	24.8
30	28	21.4	24.7
31	27.8	22	24.7
32	28	21	24.5
33	27	20.8	23.9
34	25.9	20.7	23.3
35	24.9	19.3	22.1
36	25	20	22.5
37	24.1	18.2	21.15
38	25.7	20.3	23
39	25.7	20.9	23.3
40	25.4	21.7	23.55
MEDIA	24.4	19.14	21.77

RESIEMBRA Día	TEMPERATURA		
	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
1	27.8	22	24.7
2	28	21	24.5
3	27	20.8	23.9
4	25.9	20.7	23.3
5	24.9	19.3	22.1
6	25	20	22.5
7	24.1	18.2	21.15
8	25.7	20.3	23
9	25.7	20.9	23.3
10	25.4	21.7	23.55
11	25.5	21	23.25
12	26.9	21	23.95
13	27	21.1	24.05
14	27	21.9	24.45
15	26.3	22.1	24.2
16	27	20.9	23.95
17	25.5	20	22.75
18	25.2	20.7	22.95
19	25	21	23
20	23.8	20	21.9
21	24.2	18.8	21.5
22	23.9	18.2	21.05
23	23.2	18.6	20.9
24	21.9	17.1	19.5
25	21.9	16.7	19.3
26	21.8	17	19.4
27	21.2	18	19.6
28	22.2	17	19.6
29	22	16	19
30	21.2	15.9	18.55
31	22.8	18	20.4
32	24	19	21.5
33	25.8	20	22.9
34	25.8	20	22.9
35	23.6	20	21.8
36	24.2	20	22.1
37	22.9	17.8	20.35
38	24	20.6	22.3
39	21	17.2	19.1
40	22.5	18.9	20.7
MEDIA	24.47	19.48	21.97

Cuadro 45A. Valores de la tabla propuesta por Montaldo (15) para determinar peso específico, porcentaje de materia seca, porcentaje de almidón y calidad culinaria, por medio de densidades conocidas de soluciones salinas.

Número de solución	Gramos de NaCl por litro de agua	Peso específico	Almidón (%)	Materia seca (%)	Calidad culinaria
1	83.13	1.055	8.85	14.94	Muy mala
2	90.74	1.060	9.84	15.99	Muy mala
3	98.38	1.065	10.84	17.05	Muy mala
4	106.03	1.070	11.83	18.10	Mala
5	113.75	1.075	12.83	19.16	Mala
6	121.49	1.080	13.82	20.21	Regular
7	129.29	1.085	14.82	21.27	Regular
8	137.06	1.090	15.81	22.33	Regular
9	144.70	1.095	17.20	23.50	Buena
10	152.30	1.100	18.20	24.60	Buena
11		1.105	25.49	18.80	Excelente
12		1.110	26.55	19.79	Excelente

## PREPARACION DE MEDIOS BASALES

### 1. PREPARACION DEL MEDIO BASAL MS

En esta sección, y a manera de ejemplo, se describirá el procedimiento de Murashige *et al.* (1962) para preparar el medio basal (fuente de carbono + nutrimentos minerales + vitaminas). La preparación se puede llevar a cabo de diversas maneras, de acuerdo con el consumo y las facilidades disponibles en cada laboratorio, generalmente es conveniente prepararlo 10 veces más concentrado (MS x 10), procediendo de la siguiente manera:

- a) Pesar, teniendo presente que se prepara MS x 10:

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16,5000 mg
KNO <sub>3</sub>	19,0000 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,700 mg
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3,700 mg

Disolver, en aproximadamente 300 ml. de H<sub>2</sub>O destilada-desmineralizada (DD).

- b) Adicionar 10 ml de una solución de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (44 g/100 ml de H<sub>2</sub>O DD).
- c) Adicionar 10 ml de una solución que contenga 3.73 g de Na<sub>2</sub>EDTA y 2.78 g de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, disueltos en 100 ml de H<sub>2</sub>O DD. Esta solución se debe guardar en el refrigerador.
- d) Adicionar 10 ml de una solución de KI (83 mg/100 ml de H<sub>2</sub>O DD). Esta solución se debe conservar en el refrigerador, en frascos a prueba de luz.

- e) Adicionar 10 ml de una solución (conservada en refrigerador) que contenga:

$H_3BO_3$	620 mg/100 ml $H_2O$ DD
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	2,230 mg/100 ml $H_2O$ DD
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	860 mg/100 ml $H_2O$ DD
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	25 mg/100 ml $H_2O$ DD
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2.5 mg/100 ml $H_2O$ DD
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2.5 mg/100 ml $H_2O$ DD

- f) Adicionar 10 ml de una solución (conservada en el refrigerador), que contenga:

Glicina	200 mg/100 ml de $H_2O$ DD
Tiamina-HCl	10 mg/100 ml de $H_2O$ DD
Piridoxina-HCl	50 mg/100 ml de $H_2O$ DD
Acido nicotínico	50 mg/100 ml de $H_2O$ DD
Mio-inositol	10,000 mg/100 ml de $H_2O$ DD

- g) Adicionar 30 g de sacarosa.
- h) Completar hasta 1000 ml con  $H_2O$  DD.
- i) Se repartirá el medio así preparado en los recipientes, se rotulará "MS x 10" y se almacenará en el congelador (-5 a -20 grados centígrados) hasta cuando se utilice.

## 2. PREPARACION DEL MEDIO BASAL MS, MODIFICADO POR EL CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP).

Todos los medios de cultivo utilizados para este trabajo están basados en las sales de Murashige y Skoog (1962). Las soluciones concentradas de estas sales son normalmente preparadas en cuatro partes:

- |                         |
|-------------------------|
| a) Sales                |
| b) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ |
| c) Hierro               |
| d) Vitaminas            |

- a) **Sales:** disuelva, independientemente, los pesos de cada sal en 200 ml de agua destilada.

$NH_4NO_3$	35. g
$KNO_3$	40.0 g
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	9.0 g
$KH_2PO_4$	3.5 g
$H_3BO_3$	0.1 g
$(MnSO_4 \cdot 4H_2O \text{ ó } )$	0.5 g

MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	0.4 g
(ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O ó ZnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	0.2 g 0.1 g
KI	0.02 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.05 g

Pese 5 mg (0.005 g) de cada una de las siguientes sales:

CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	y	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
--------------------------------------	---	--------------------------------------

Disolverlas conjuntamente en 10 ml de agua destilada y tomar 1 ml para 200 ml de agua destilada.

Mezclar las diez soluciones anteriores para conseguir 2 litros de sales concentradas.

**b) MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O**

MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.7 g en 100 ml de agua destilada.
--------------------------------------	------------------------------------

**c) Hierro**

Na <sub>2</sub> EDTA	0.75 g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.55 g

Disolver el FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O en 20 ml de agua destilada y el Na<sub>2</sub>EDTA en 20 ml de agua destilada a medida que se calienta. Mezclar el FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O y el Na<sub>2</sub>EDTA; dejar enfriar y agregar agua hasta completar 100 ml.

**d) Vitaminas**

Tiamina-HCl	20 mg
Glicina	100 mg
Acido nicotínico	25 mg
Piridoxina-HCl	25 mg

Disolver cada vitamina y completar hasta 500 ml con agua destilada. Repartir 10 ml de la solución de vitaminas en pequeños envases y mantenerlos congelados. Usar 10 ml por cada litro de medio.



**Preparación de medios de cultivo.** Se preparará 1 litro del medio básico Murashige y Skoog (MS) mezclando las soluciones concentradas, ya descritas, en las siguientes proporciones:

Sales	100 ml
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	10 ml
Hierro	5 ml
Vitaminas	10 ml
Mio-inositol	100 ml

Se agregan la sacarosa y las hormonas que correspondan según el medio a utilizar. Los medios, con o sin agentes gelificantes, se esterilizan en autoclave a 121 grados centígrados durante 20 minutos a una presión de 103,4 kP (15 libras por pulgada cuadrada).

### 3. PREPARACION DEL MEDIO BASAL P7 y P2

#### a) ½ NMSI para 1 litro (40 x)

MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	7,400 mg
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	8,800 mg
KNO <sub>3</sub>	38,000 mg
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16,500 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,400 mg

#### b) Sales B5I x 40 para 1 litro (40 x)

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,680 mg
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	10,000 mg
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	3,000 mg
KNO <sub>3</sub>	60,000 mg
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3,000 mg

#### c) Sales MS II para 1 litro (100 x)

FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2,780 mg
Na <sub>2</sub> .EDTA	3,730 mg
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	1,690 mg
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	860 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	620 mg

#### d) MS B5 Micro para 1 litro (1000 x)

CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	25 mg
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	25 mg
KI	830 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	250 mg

## e) Soluciones B5 (vitaminas) para 100 ml (1000 x)

Mio-inositol	10,000 mg
Acido nicotínico	100 mg
Piridoxina-HCl	100 mg
Tiamina-HCl	1,000 mg

## ELABORACION DE 1 LITRO DE MEDIO DE CULTIVO P2

½ NMSI	25 ml
B5I	25 ml
MS II	10 ml
MS B5 micro	1 ml
B5 Vitaminas	1 ml
Agua de coco	50 ml
Acido fólico (1,000 ppm)	1 ml
L-arginina (4,000 ppm)	1 ml
Pantotenato de calcio (2,000 ppm)	1 ml
Putrecina-HCl (10,000 ppm)	1 ml
Azúcar	30 g
Phytigel	3.5 g
pH	5.8

## ELABORACION DE 1 LITRO DE MEDIO DE CULTIVO P7

½ NMSI	25 ml
B5I	25 ml
MSII	10 ml
MS micro	1 ml
B5 Vitaminas	1 ml
Agua de coco	50 ml
Acido fólico (1,000 ppm)	1 ml
L-arginina (4,000 ppm)	1 ml
Pantotenato de calcio (2,000 ppm)	1 ml
Putrescina-HCl (10,000 ppm)	1 ml
Ancymidol	0.4 r g
Azúcar	30 g
Phytigel	3.5 g
pH	5.8

**Cuadro 46A. Datos originales del experimento de la repetición 1 y 2 del clon Ictafrit.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 1						R E P E T I C I O N No. 2					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	9.2	6	0.1514	0.0754	7	9.0	8.8	6	0.0768	0.0433	6	8.1
2	5.6	3	0.0804	0.0313	5	6.5	5.3	3	0.0589	0.0371	6	9.4
3	8.6	6	0.1240	0.0987	6	8.5	8.6	7	0.1014	0.0587	6	9.7
4	9.4	7	0.1868	0.0581	6	6.9	4.5	3	0.0745	0.0979	4	10.0
5							6.2	6	0.1002	0.0109	4	1.9
6	8.5	3	0.1946	0.1993	8	5.3	5.8	3	0.0936	0.0474	3	10.5
7	10.8	6	0.2217	0.0804	8	6.4	10.4	9	0.2041	0.0899	7	7.4
8												
9							14.7	7	0.5072	0.0405	6	3.6
10												
11	0	0.1	0	0	0	0	17.3	9	0.6588	0.0665	7	3.9
12	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
13							11.6	7	0.1163	0.0105	5	2.1
14	6.7	4	0.0713	0.0510	7	9.9	6.8	4	0.0574	0.0178	8	6.7
15	7.0	6	0.1084	0.1148	7	8.4	4.7	5	0.0309	0.0125	3	6.2
16	3.9	3	0.0396	0.0232	6	7.4	6.2	6	0.0562	0.0319	5	10.8
17	13.7	6	0.4335	0.0296	5	5.2	15.2	8	0.2715	0.0300	6	3.9
18	11.4	5	0.3494	0.0387	14	6.8	16.8	7	0.3206	0.0324	8	6.5
19	13.8	9	0.5504	0.1093	9	6.4	12.6	8	0.2259	0.0213	5	3.4
20	1.0	2	0.0136	0	0	0	2.5	2	0.0534	0	0	0
21	6.2	5	0.0568	0.0360	4	2.5	5.9	5	0.0444	0.0130	3	4.7
22	7.2	5	0.0286	0	0	0	3.9	2	0.0124	0	0	0
23	6.1	6	0.0902	0.0320	4	2.4	4.8	4	0.0372	0.0114	3	5.4
24	5.7	3	0.0409	0.0022	3	2.6	8.8	6	0.0500	0.0015	3	2.4
25	14.9	8	0.3226	0.0190	4	2.2	6.7	4	0.0944	0.0187	7	2.9
26							14.5	6	0.2564	0.0065	3	3.8
27	15.2	8	0.2347	0.0161	4	2.1	13.3	6	0.1292	0.0226	8	4.2
28	13.5	5	0.4129	0.0065	6	6.8	16.1	9	0.3402	0.0078	4	2.1
29	3.9	3	0.0445	0.1167	8	5.4	7.2	4	0.2143	0.0701	5	4.2
30							4.9	3	0.0826	0.0718	5	5.4
31	11.8	7	0.3283	0.2010	9	6.4	4.8	3	0.0812	0.0820	8	5.9
32							6.5	3	0.2189	0.2634	7	6.5
33	1.9	6	0.1151	0.1503	13	7.9	2.2	7	0.0498	0.0285	3	6.4
34	4.1	3	0.1079	0.1713	15	5.7						
35	2.1	6	0.1740	0.3522	18	7.7	2.2	6	0.1398	0.1694	7	5.5
36	4.3	5	0.1720	0.1905	17	7.4	5.8	7	0.1950	0.4313	22	6.8

Cuadro 47A. Datos originales del experimento de la repetición 3 y 4 del clon Ictafrit.

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 3						R E P E T I C I O N No. 4					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	5.6	4	0.0558	0.0284	7	5.9	4.2	3	0.0462	0.0239	3	9.8
2	7.0	5	0.0948	0.0281	6	5.7	5.5	3	0.0587	0.0427	6	6.2
3	7.4	6	0.0729	0.0476	6	9.2	10.8	7	0.1812	0.0806	7	5.9
4	6.1	6	0.1239	0.0938	11	9.3	5.5	7	0.2314	0.1986	13	7.5
5	13.4	9	0.1379	0.0081	5	3.4	10.2	5	0.2444	0.1490	7	5.6
6	9.5	9	0.1587	0.1290	6	7.0	6.0	3	0.1112	0.1706	6	6.1
7	11.8	8	0.1202	0.0319	6	4.7	12.3	8	0.2700	0.1005	10	5.7
8	6.2	4	0.2846	0.2041	5	6.9	12.5	8	0.3913	0.1755	7	6.4
9	0	0.1	0	0	0	0	14.4	6	0.6496	0.0893	9	3.9
10												
11	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
12	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
13	7.4	3	0.0376	0.0099	3	13.2	4.6	4	0.0501	0.0154	3	6.9
14	9.3	6	0.0914	0.0260	5	11.3	3.3	3	0.0136	0.0123	3	12.3
15	7.7	3	0.0540	0.0184	3	9.9	10.4	7	0.1262	0.0419	6	5.3
16	4.0	5	0.0882	0.0766	5	11.1	5.0	3	0.0634	0.0649	6	12.6
17	13.2	5	0.1906	0.0474	8	7.6	18.0	9	0.4421	0.0338	11	3.4
18	1.3	1	0.0268	0	0	0	2.6	3	0.0797	0	0	0
19	11.2	7	0.3450	0.0158	10	6.1	12.1	8	0.3920	0.0530	12	4.2
20	11.3	5	0.4990	0.1817	12	9.1	11.9	7	0.4203	0.0520	12	5.4
21	4.9	3	0.0366	0.0012	3	3.1	10.9	6	0.0647	0.0064	3	4.7
22	14.2	7	0.0853	0.0010	4	2.3	6.3	5	0.0277	0	0	0
23	4.9	4	0.0362	0.0080	1	10.3	7.2	7	0.0798	0.0047	3	4.4
24	4.2	2	0.0254	0	0	0	11.3	6	0.0798	0.0088	4	3.6
25	8.6	4	0.3140	0.0007	1	4.5	10.8	5	0.3771	0.0233	7	5.1
26	2.5	2	0.0511	0	0	0	1.2	3	0.0102	0	0	0
27	5.9	3	0.1555	0.0004	1	2.1	8.9	5	0.6340	0.0046	6	1.8
28	15.8	9	0.4703	0.0140	3	5.4	16.3	9	0.3639	0	0	0
29	10.4	5	0.1898	0.0589	4	4.7	10.6	6	0.2035	0.0843	5	5.7
30	8.3	3	0.1220	0.0590	7	5.9	3.3	3	0.0608	0.0160	6	4.8
31	7.5	5	0.1641	0.1072	6	5.9	6.3	3	0.1735	0.2196	10	4.9
32	6.0	3	0.1962	0.1248	13	6.1	8.0	5	0.1829	0.0856	13	8.8
33	1.8	7	0.2043	0.3633	11	5.1	2.1	6	0.1242	0.3241	14	8.6
34	3.8	5	0.1323	0.0505	5	2.2	2.6	6	0.1125	0.0174	2	6.5
35	2.6	7	0.2052	0.3771	14	5.4	2.7	7	0.2023	0.2426	7	6.3
36	3.2	7	0.2155	0.2529	4	9.4	6.1	4	0.1759	0.3174	13	5.6

**Cuadro 48A. Datos originales del experimento de la repetición 5 y 6 del clon Ictafrit.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 5						R E P E T I C I O N No. 6					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	5.8	6	0.0825	0.0497	6	8.5	8.0	6	0.0939	0.0470	6	8.6
2	4.3	2	0.0380	0.0500	4	7.9	8.3	7	0.1040	0.0508	6	7.2
3	10.3	10	0.1327	0.0399	4	8.1	8.3	6	0.1183	0.0519	6	9.2
4	7.4	7	0.0940	0.0949	9	12.8	11.1	7	0.2149	0.0682	7	7.6
5	8.1	5	0.1775	0.0285	7	4.4	10.4	6	0.1737	0.1612	6	6.6
6	9.8	7	0.1014	0.0270	3	5.1	13.2	6	0.2958	0.1005	4	5.3
7	6.3	8	0.1094	0.0461	6	7.3	11.2	7	0.2321	0.1034	9	6.2
8	5.5	3	0.2171	0.2961	7	6.4	10.6	8	0.2564	0.1196	6	5.2
9	16.1	6	0.6350	0.0538	10	6.4	0	0.1	0	0	0	0
10												
11	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
12	1.0	1	0.0102	0.0011	2	0.9	0.7	1	0.0067	0	0	0
13	8.9	6	0.0508	0.0067	4	5.7	8.0	5	0.0827	0.0413	4	8.9
14	7.4	6	0.0532	0.0026	2	5.4	4.1	2	0.0305	0.0248	4	10.6
15	7.8	7	0.0455	0.0200	2	9.2	6.8	6	0.1470	0.0802	7	8.3
16	4.3	3	0.0590	0.0513	5	10.0	4.8	4	0.0888	0.0646	7	10.4
17	0	0.1	0	0	0	0	7.7	6	0.1312	0.0518	5	9.0
18	0.5	1	0.0027	0	0	0	1.2	2	0.0070	0.0041	2	13.3
19	15.3	10	0.3524	0.0584	12	5.4	12.1	6	0.1927	0.0219	12	2.3
20	17.5	9	0.7795	0.0762	26	3.5	17.9	10	0.5117	0.0600	21	4.7
21	6.8	6	0.0440	0.0034	2	6.2	4.1	2	0.0259	0.0170	1	6.9
22	3.9	2	0.0095	0.0001	1	1.0	6.7	5	0.0370	0.0002	2	1.0
23	9.9	9	0.1058	0.0048	2	3.5	8.1	5	0.1014	0.0113	3	2.8
24	7.4	5	0.0485	0.0003	2	1.4	8.0	5	0.0561	0.0022	2	3.2
25	7.9	6	0.1168	0.0046	3	4.7	3.5	3	0.3423	0.0014	2	1.2
26	5.9	7	0.0991	0.0035	2	1.5	11.8	6	0.5292	0.0052	9	3.0
27	15.8	7	0.4990	0.0206	8	5.4	9.7	5	0.4804	0.0203	3	4.6
28	11.9	7	0.2640	0.0045	3	2.2	10.2	6	0.1791	0	0	0
29	5.7	3	0.1405	0.1262	4	8.3	3.9	2	0.0454	0.1099	5	6.8
30	0	0.1	0	0.0509	3	10.1	7.6	3	0.1088	0.1115	4	6.6
31	9.5	5	0.2133	0.2153	8	5.4	13.4	7	0.1995	0.0884	6	4.8
32	13.3	7	0.2577	0.1070	8	5.5	9.0	3	0.2415	0.1290	8	5.6
33	4.4	6	0.2459	0.1257	2	6.9	3.8	7	0.1487	0.1346	5	6.3
34	6.3	8	0.1508	0.3063	20	7.6	3.4	10	0.0994	0.2471	20	8.3
35	3.0	6	0.2506	0.1888	7	4.5	2.2	8	0.1562	0.2510	13	9.2
36	5.8	10	0.3696	0.3377	25	7.3	3.2	8	0.2391	0.4344	28	8.6

Cuadro 49A. Datos originales del experimento de la repetición 7 y 8 del clon Ictafrit.

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 7						R E P E T I C I O N No. 8					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	5.7	4	0.0628	0.0294	6	8.7	7.0	6	0.0940	0.0330	8	8.0
2	8.0	6	0.0989	0.0491	9	7.0	6.0	4	0.0753	0.0276	4	9.3
3	9.4	6	0.1729	0.0597	7	8.9	8.9	6	0.1440	0.0472	8	6.8
4	10.8	8	0.1700	0.0910	8	7.3	15.0	8	0.2768	0.0751	4	7.1
5	9.3	10	0.1409	0.1001	10	7.3	8.3	6	0.2331	0.0756	4	4.4
6	12.3	5	0.2551	0.1960	7	8.7						
7	9.0	6	0.1673	0.1063	10	8.4	14.2	8	0.2915	0.0710	7	5.6
8	16.0	10	0.5320	0.1161	7	5.6	9.8	6	0.2933	0.0966	5	5.6
9	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
10												
11	19.1	11	0.4546	0.0480	13	4.2	0	0.1	0	0	0	0
12	0.9	1	0.0078	0.0001	1	2.3	0	0.1	0	0	0	0
13	12.9	9	0.1368	0.0380	7	9.3	6.5	3	0.0576	0.0231	5	6.4
14	5.1	6	0.0382	0.281	7	9.2	5.0	2	0.0527	0.0132	5	9.6
15	7.9	5	0.1038	0.0359	6	10.5	6.0	5	0.0632	0.0138	4	6.5
16	4.5	3	0.0802	0.0652	8	12.3	7.8	6	0.0928	0.0270	4	10.5
17	14.5	8	0.3734	0.0595	18	5.6	15.0	4	0.3747	0.0816	8	5.0
18	17.0	10	0.2775	0.0103	14	3.3	17.7	4	0.7994	0.0614	12	4.8
19	15.6	9	0.5258	0.0488	19	4.9	16.3	8	0.3689	0.0852	8	4.9
20	0	0.1	0	0.0061	1	9.5	3.3	5	0.0889	0	0	0
21	8.0	5	0.0642	0.0068	4	3.2	7.0	5	0.0486	0.0015	3	1.6
22	4.9	3	0.0186	0.0001	1	0.6	8.0	3	0.0370	0.0004	2	1.5
23	6.7	6	0.0710	0.0095	3	6.0	9.9	6	0.1034	0	0	0
24	7.4	5	0.0420	0.0011	3	0.8	4.2	2	0.0200	0	0	0
25	8.7	4	0.2848	0.0193	7	3.9	11.4	7	0.2588	0.0057	8	2.9
26	16.0	8	0.2951	0.0017	3	3.3	11.8	5	0.1975	0	0	0
27	16.3	8	0.4129	0.0101	8	3.7	12.9	6	0.5397	0.0393	11	6.3
28	6.0	8	0.1156	0.0001	1	1.6	17.0	9	0.3625	0.0118	13	3.3
29	5.2	2	0.1084	0.1476	5	5.6	10.9	4	0.2468	0.1676	10	5.6
30	10.4	4	0.1656	0.0659	6	7.1	4.1	2	0.0522	0.0336	4	7.2
31	10.9	7	0.1865	0.0615	9	6.0	9.0	6	0.2015	0.0820	10	6.5
32	13.5	6	0.2484	0.0636	10	4.9	10.2	3	0.3034	0.2070	10	5.5
33	2.4	6	0.1086	0.2060	7	10.2	3.0	6	0.1666	0.0285	3	2.5
34	4.2	4	0.0997	0.0934	6	2.6	6.4	7	0.1220	0.1838	11	6.6
35	2.9	7	0.2761	0.1823	7	6.3	2.8	8	0.2334	0.1823	5	5.1
36	5.0	8	0.0973	0.0569	7	7.3	5.2	7	0.0995	0.1848	13	7.4

**Cuadro 50A. Datos originales del experimento de la repetición 9 y 10 del clon Ictafrit.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 9						R E P E T I C I O N No. 10					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	5.0	3	0.0616	0.0352	5	8.0	10.9	8	0.0868	0.0377	9	7.1
2	7.5	6	0.0610	0.0090	4	5.6	7.5	5	0.0925	0.0148	3	6.5
3	12.6	10	0.2106	0.0908	12	8.3	9.8	6	0.1365	0.0485	9	6.1
4	11.1	7	0.1963	0.0489	5	6.9	11.9	6	0.2052	0.0516	4	7.3
5	12.8	6	0.1644	0.0410	5	6.3	13.7	7	0.1812	0.0583	5	6.8
6	15.8	8	0.2432	0.0463	4	5.0	14.1	10	0.2027	0.0316	5	5.4
7	10.8	6	0.2055	0.0428	5	7.0	10.3	8	0.2983	0.1439	11	5.7
8	15.4	9	0.3852	0.1269	5	5.5	12.8	7	0.4050	0.1553	7	6.9
9	0	0.1	0	0	0	0	14.9	5	0.6646	0.0939	20	3.4
10												
11	0	0.1	0	0	0	0	12.0	4	0.4735	0.1108	13	4.8
12	0	0.1	0	0	0	0	1.1	1	0.0193	0.0012	2	3.3
13	11.5	6	0.1561	0.0263	5	8.7	7.6	6	0.0583	0.0244	6	7.2
14	6.2	4	0.0615	0.0263	3	11.6	6.2	4	0.0425	0.0187	4	12.1
15	8.6	9	0.1237	0.0498	5	9.8	7.4	6	0.1027	0.0480	7	7.8
16	8.8	7	0.1097	0.0429	8	11.0	7.2	7	0.0486	0.0314	6	12.2
17	15.3	7	0.3635	0.0567	13	5.1	12.5	5	0.4408	0.0713	16	4.8
18	15.6	6	0.4753	0.0174	16	3.8	0.8	2	0.0059	0.0068	1	10.8
19	17.5	8	0.5914	0.0574	20	3.5	16.0	7	0.4520	0.0595	15	5.4
20	17.2	10	0.3886	0.0178	11	5.6	1.6	2	0.0269	0.0001	1	3.2
21	7.0	5	0.0458	0.0003	1.9	1.9	9.3	6	0.0609	0.0062	3	3.4
22	6.5	4	0.0242	0.0001	1.3	1.3	7.8	6	0.0349	0.0001	2	1.1
23	7.2	6	0.0918	0.0049	2.5	2.5	8.4	6	0.0890	0.0011	2	2.3
24	8.7	6	0.0595	0.0001	0.9	0.9	5.2	4	0.0453	0.0001	2	3.0
25	0	0.1	0	0	0	0	14.0	7	0.4298	0.0130	7	3.2
26							0	0.1	0	0	0	0
27	13.7	8	0.2518	0.0145	2.6	2.6	12.3	7	0.5147	0.0177	10	3.6
28	0.6	1	0.0045	0	0	0	11.4	9	0.1269	0.0001	2	1.0
29	10.8	3	0.1577	0.0401	3.7	3.7	5.3	3	0.0950	0.1114	7	5.5
30	5.8	4	0.0972	0.0859	7.2	7.2						
31	13.6	7	0.2707	0.0846	5.5	5.5	13.5	7	0.2516	0.0517	6	5.1
32	15.1	8	0.3989	0.1149	5.0	5.0	11.0	7	0.0894	0.0404	5	7.5
33	3.5	8	0.2166	0.2021	5.1	5.1	6.0	5	0.1849	0.0929	6	5.7
34	4.1	9	0.1323	0.1160	9.7	9.7						
35	2.8	7	0.2197	0.0710	4.3	4.3	2.0	6	0.1988	0.2297	18	7.5
36	3.2	9	0.1324	0.1017	7.1	7.1	3.1	8	0.0992	0.1427	19	9.3

Cuadro 51A. Datos originales del experimento de la repetición 1 y 2 del clon Loman.

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 1						R E P E T I C I O N No. 2					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	6.1	5	0.0689	0.0770	5	7.4	8.0	8	0.0904	0.0269	9	5.7
2	6.9	6	0.0389	0.0110	5	4.5	6.3	3	0.0625	0.0075	7	4.8
3	6.0	6	0.0851	0.1194	8	9.4	6.3	6	0.0884	0.0426	7	7.7
4	5.9	6	0.0956	0.0496	12	4.6	6.0	4	0.1086	0.0711	11	5.2
5	15.2	10	0.2295	0.0342	5	3.4	12.5	8	0.2661	0.0289	5	4.3
6	8.8	4	0.1298	0.0700	8	4.8	11.1	7	0.1232	0.0132	2	5.5
7	15.0	9	0.3484	0.1196	6	3.9	13.4	9	0.3236	0.0951	7	4.7
8	11.2	5	0.1773	0.0256	6	4.3	10.8	6	0.2609	0.0786	6	5.2
9	12.8	5	0.9747	0.0792	10	3.5	11.6	11	0.4685	0.1338	9	3.2
10												
11	10.6	5	0.4452	0.1348	10	3.5	13.5	8	0.7440	0.2080	11	5.4
12							0	0.1	0	0	0	0
13	8.8	7	0.0865	0.0268	5	5.8	9.4	6	0.1108	0.0137	3	4.9
14	4.3	3	0.0259	0.0101	4	6.5	5.3	4	0.0627	0.0105	6	5.9
15	11.8	7	0.2390	0.0709	8	5.6	7.0	5	0.1077	0.0380	5	4.8
16	4.4	3	0.0840	0.0138	4	6.2	4.9	3	0.0848	0.0557	9	6.0
17	0	0.1	0	0	0	0	14.1	7	0.3920	0.0500	6	4.9
18							16.6	9	0.4260	0.0416	14	4.2
19	16.1	9	0.5986	0.0706	8	5.3	9.3	6	0.4446	0.0716	5	4.4
20	2.5	4	0.0817	0	0	0	1.7	2	0.0343	0	0	0
21	7.9	7	0.0590	0.0150	3	1.8	7.4	6	0.0454	0.0042	2	0.7
22	4.0	2	0.0144	0.0004	2	1.8	4.0	2	0.0149	0.0002	3	2.2
23	14.6	7	0.1623	0.0235	4	2.8	6.8	4	0.0571	0.0037	2	4.7
24	5.2	3	0.0426	0.0026	2	3.0	4.0	4	0.0446	0.0041	2	3.8
25	12.5	8	0.1921	0.0120	3	2.1	9.9	7	0.1767	0.0069	2	0.9
26	0	0.1	0	0	0	0						
27	0	0.1	0	0	0	0	13.6	9	0.0940	0.0092	3	1.8
28							0	0.1	0	0	0	0
29	7.3	6	0.0800	0.0499	7	5.3	12.7	6	0.0896	0.0152	4	4.9
30	4.2	3	0.0390	0.0114	3	3.2						
31	11.2	6	0.2825	0.0738	7	7.0	12.3	7	0.1769	0.0813	6	5.1
32	8.0	4	0.1508	0.0355	5	4.5	4.7	4	0.1060	0.1076	8	4.6
33	4.2	8	0.1182	0.0693	9	6.3	6.7	7	0.0615	0.0317	5	6.1
34	6.0	3	0.0748	0.0818	7	5.9	7.2	6	0.1604	0.1247	12	6.7
35	2.3	7	0.1430	0.1701	9	5.8	4.1	7	0.0570	0.0706	7	5.7
36							7.3	7	0.1854	0.2210	26	5.3



**Cuadro 52A. Datos originales del experimento de la repetición 3 y 4 del clon Loman.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 3						R E P E T I C I O N No. 4					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	5.1	3	0.0300	0.0122	2	11.2	7.8	7	0.0931	0.0533	7	5.5
2	6.2	8	0.0501	0.0241	6	4.6	4.0	3	0.0352	0.0254	8	5.0
3	6.2	6	0.0768	0.0229	7	6.2	6.5	6	0.0900	0.0513	7	6.3
4	6.7	7	0.1113	0.0724	5	8.9	5.6	6	0.1158	0.1093	13	7.0
5	14.3	8	0.1525	0.0103	5	2.9	10.8	7	0.1161	0.0115	5	4.2
6	14.0	9	0.2276	0.0410	5	5.4	7.0	7	0.1480	0.0315	3	5.9
7	9.3	7	0.1424	0.0626	8	5.6	13.5	10	0.3792	0.2083	4	5.3
8	14.4	8	0.3749	0.0709	5	5.2	11.8	6	0.3954	0.0828	5	5.5
9	15.2	8	0.7646	0.1209	11	5.9	0	0.1	0	0	0	0
10												
11	15.8	7	0.4777	0.0612	13	3.5	15.9	8	0.8382	0.0988	8	4.1
12	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
13	6.1	5	0.0441	0.0025	2	4.5	11.1	7	0.1040	0.0212	5	5.2
14	7.9	7	0.0899	0.0172	5	5.4	9.5	6	0.0983	0.0119	4	3.5
15	7.8	5	0.0713	0.0238	4	5.2	9.8	7	0.1631	0.0518	2	5.9
16	10.0	6	0.2278	0.0198	6	4.5	7.0	7	0.0842	0.0365	5	7.5
17	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
18	16.4	7	0.4326	0.0103	13	3.4	16.9	7	0.1513	0.0212	11	4.6
19	11.8	8	0.2211	0.0246	7	5.4	0	0.1	0	0	0	0
20	14.8	8	0.7122	0.0443	7	7.2	1.1	3	0.0230	0	0	0
21	7.2	5	0.0310	0.0038	2	3.4	4.8	3	0.0309	0.0010	1	1.3
22	7.8	4	0.0446	0.0010	2	1.3	3.5	2	0.0134	0.0010	2	1.2
23	12.7	6	0.1082	0	0	0	9.9	7	0.0690	0.0070	2	5.1
24	9.2	5	0.0764	0.0015	3	3.4	6.8	5	0.0463	0.0024	2	2.2
25	7.9	3	0.1621	0.0126	3	6.3	5.9	4	0.2764	0	0	0
26												
27	6.4	3	0.0451	0	0	0	10.1	7	0.2801	0.0035	2	2.9
28	12.2	7	0.2917	0.0024	3	2.4	13.9	10	0.2316	0	0	0
29	9.6	5	0.1251	0.0177	4	4.6	9.7	8	0.1244	0.0384	4	4.6
30	3.4	3	0.0275	0.0196	3	2.1	13.3	6	0.1542	0.0211	5	4.3
31	8.3	5	0.1260	0.1320	8	5.3	13.8	9	0.2839	0.1583	7	6.4
32	6.5	5	0.1420	0.2199	6	5.1	8.6	5	0.1709	0.0482	7	4.7
33	4.4	8	0.2224	0.2519	10	5.5	4.2	8	0.1490	0.1510	5	6.3
34	9.7	6	0.3135	0.1589	5	5.1	7.0	7	0.1601	0.0554	7	5.7
35	5.6	8	0.2518	0.2537	10	5.6	2.1	6	0.1210	0.2260	14	7.3
36	4.2	7	0.2662	0.2837	16	7.9	8.9	9	0.2162	0.1771	10	7.9

**Cuadro 53A. Datos originales del experimento de la repetición 5 y 6 del clon Loman.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 5						R E P E T I C I O N No. 6					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	4.1	5	0.0328	0.0185	6	6.7	9.1	7	0.0969	0.0515	6	7.8
2	6.3	4	0.0792	0.0530	12	5.7						
3	6.0	6	0.0949	0.0309	5	6.9	8.5	6	0.1069	0.0672	7	7.3
4	8.5	5	0.1952	0.0569	5	7.4	7.2	6	0.1358	0.0948	9	7.3
5	7.7	6	0.0777	0.0013	2	1.1	8.4	6	0.0678	0.0139	2	4.1
6	13.0	7	0.1713	0.0284	4	5.4	10.8	6	0.1700	0.0191	5	4.8
7	10.3	6	0.1584	0.0880	3	5.1	9.5	7	0.1906	0.1277	9	6.3
8	8.8	6	0.2180	0.0916	7	6.5	10.6	7	0.2975	0.1293	7	6.4
9	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
10												
11	13.6	7	0.2560	0.0722	9	3.8	0	0.1	0	0	0	0
12												
13	5.5	3	0.0637	0.0129	3	7.1	6.2	8	0.0538	0.0213	4	7.4
14	7.2	5	0.0783	0.0187	5	5.7	6.3	5	0.0815	0.0526	7	5.7
15	8.8	7	0.1428	0.0311	6	6.4	6.0	6	0.0974	0.0354	4	6.9
16	6.5	7	0.1097	0.0515	4	7.0	7.3	7	0.1029	0.0720	8	7.0
17	0	0.1	0	0	0	0	14.0	6	0.6437	0.0578	8	4.4
18	17.1	11	0.3818	0.0273	14	3.2	0.7	1	0.0069	0	0	0
19	11.2	6	0.3116	0.0428	14	3.9	18.6	10	0.7691	0.0218	9	2.1
20	1.0	1	0.0139	0	0	0	0.9	1	0.0178	0	0	0
21	12.0	7	0.0905	0.0059	3	1.9	5.6	2	0.0382	0.0009	4	1.2
22	0	0.1	0	0	0	0						
23	10.4	6	0.1212	0.0112	3	3.6	12.3	7	0.1506	0.0004	2	0.7
24	4.2	3	0.0378	0.0002	1	1.5	56.2	3	0.0579	0.0010	2	2.5
25	11.5	6	0.1857	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
26	0	0.1	0	0	0	0						
27	8.6	7	0.1894	0.0024	3	2.5	0	0.1	0	0	0	0
28	0.6	1	0.0062	0	0	0						
29	15.1	8	0.2222	0.0850	3	5.6	14.5	7	0.2736	0.0597	3	4.7
30	5.0	10	0.0847	0.0333	5	3.0	2.7	6	0.0610	0	0	0
31	15.8	8	0.3581	0.1217	4	5.7	11.5	8	0.1728	0.0463	8	5.3
32	6.3	5	0.1951	0.3118	10	6.7	6.0	5	0.1689	0.1845	13	5.1
33	2.7	8	0.0888	0.0749	5	7.1	7.2	9	0.1979	0.2243	7	5.6
34	0	0.1	0	0	0	0	2.0	5	0.0706	0	0	0
35	5.0	9	0.2683	0.3522	8	5.3	2.4	8	0.1211	0.1768	15	5.8
36	11.6	10	0.2974	0.2456	20	6.5	10.0	10	0.3028	0.1986	19	4.9

**Cuadro 54A. Datos originales del experimento de la repetición 7 y 8 del clon Loman.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 7						R E P E T I C I O N No. 8					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	4.5	5	0.0467	0.0271	7	6.4						
2	5.4	6	0.0282	0.0063	9	11.1	13.7	7	0.0904	0.0197	4	5.4
3	7.0	6	0.0917	0.0402	5	7.6						
4	8.0	7	0.1136	0.0676	7	8.4	8.3	6	0.0549	0.0184	4	6.1
5	13.5	7	0.2667	0.0819	9	5.3	15.5	10	0.2912	0.0519	6	4.9
6	8.3	6	0.1393	0.0209	3	6.6	11.2	6	0.0812	0.0137	5	4.0
7	12.3	10	0.2311	0.1114	10	6.0	16.5	9	0.3903	0.0557	8	5.0
8	11.4	7	0.2871	0.1277	5	5.0	5.3	3	0.1006	0.0037	8	4.2
9	11.1	7	0.5878	0.0535	16	3.3						
10												
11	0	0.1	0	0	0	0						
12												
13	13.3	8	0.1398	0.0152	5	6.1						
14	5.2	3	0.0760	0.0344	6	7.1	5.8	5	0.0356	0.0072	4	6.4
15	10.0	7	0.1509	0.0253	5	5.5						
16	8.8	6	0.1462	0.0302	4	7.9	9.4	6	0.0560	0.0144	6	6.7
17	18.1	11	0.5283	0.0292	19	5.2	18.2	11	0.5672	0.0510	9	5.3
18	8.7	4	0.2798	0.0194	11	5.6	1.3	2	0.0058	0.0001	1	1.9
19	16.7	11	0.6029	0.0484	12	4.7	14.5	9	0.4836	0.0478	9	4.6
20	13.0	7	0.2429	0.0186	8	2.3						
21	12.1	5	0.0980	0.0003	2	0.6	11.0	6	0.1018	0.0003	3	0.8
22	7.5	4	0.0197	0	0	0	6.0	5	0.0290	0.0001	1	1.1
23	10.6	6	0.1351	0.0002	1	0.7	12.5	6	0.1698	0.0053	2	1.2
24	7.7	4	0.0714	0.0012	3	2.0	6.4	6	0.0528	0	0	0
25	4.0	4	0.1274	0	0	0	11.8	6	0.2310	0	0	0
26												
27	9.8	6	0.3107	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
28												
29	13.2	10	0.3118	0.0489	3	7.7	10.3	5	0.1027	0.0498	4	5.5
30	10.8	5	0.1416	0.0350	6	5.6	8.5	6	0.0662	0.0090	4	2.1
31	13.6	7	0.3241	0.1863	6	7.1	16.2	9	0.2964	0.0387	4	3.6
32	10.3	5	0.2030	0.0874	12	4.2	5.6	3	0.1459	0.0004	2	2.1
33	6.0	9	0.1741	0.1404	10	7.6	3.6	5	0.0721	0.0629	3	4.5
34	2.2	5	0.0486	0.0211	3	2.0	5.5	6	0.1366	0.0783	8	4.7
35	4.6	6	0.2249	0.2619	6	5.9	6.0	8	0.1721	0.0911	8	3.5
36	8.0	7	0.2457	0.0870	6	5.0	4.5	7	0.1396	0.1604	22	6.8

**Cuadro 55A. Datos originales del experimento de la repetición 9 y 10 del clon Loman.**

Tratamiento.	R E P E T I C I O N No. 9						R E P E T I C I O N No. 10					
	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)	Altura planta (cm)	Número entrenudos	Peso de tallo (g)	peso de raíces (g)	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
1	11.3	6	0.1292	0.0406	5	6.2	15.0	8	0.2187	0.0286	5	4.8
2							6.4	4	0.0787	0.0221	5	6.5
3	10.7	7	0.2034	0.0741	12	5.6	11.4	5	0.2128	0.0719	5	6.0
4	13.6	7	0.2901	0.0542	5	5.5	9.2	7	0.1327	0.0473	10	7.1
5	15.1	7	0.2476	0.0690	5	5.8	8.5	6	0.0808	0.0792	8	6.2
6	7.3	2	0.1318	0.1483	9	5.7	7.7	6	0.1344	0.0363	6	5.5
7	17.9	9	0.4924	0.1534	7	6.0	13.3	7	0.3281	0.1318	10	5.3
8	11.4	7	0.1998	0.0669	5	5.6	12.3	7	0.2972	0.1094	9	4.3
9	0	0.1	0	0	0	0	3.6	3	0.1623	0.0085	3	1.7
10												
11	18.0	9	0.7496	0.1344	14	4.9	0	0.1	0	0	0	0
12												
13	11.4	7	0.1490	0.0512	8	5.3	9.5	7	0.1033	0.0206	4	5.0
14	5.3	4	0.0668	0.0163	4	6.8	15.4	8	0.1678	0.0084	4	3.8
15	9.7	6	0.1449	0.0105	5	5.0	7.4	6	0.1234	0.0323	6	4.8
16	9.7	7	0.1627	0.0482	9	5.9	9.5	7	0.1305	0.0365	6	7.0
17	16.0	7	0.4258	0.0436	9	6.0	13.3	5	0.4243	0.0745	12	6.0
18	16.5	7	0.3281	0.0348	13	4.5	1.6	1	0.0180	0.0001	2	2.4
19	15.1	9	0.4130	0.0737	11	5.7	17.8	10	0.5082	0.0296	8	5.2
20												
21	9.4	5	0.0697	0.0003	2	1.4	10.8	5	0.1015	0.0001	1	0.6
22	3.9	2	0.0146	0.0001	1	0.4	5.2	4	0.0294	0.0001	2	0.9
23	10.3	6	0.1128	0.0055	3	2.4	13.3	6	0.1853	0.0188	4	2.6
24	5.7	5	0.0385	0.0007	3	1.4	8.7	5	0.0586	0.0001	3	1.2
25	12.0	9	0.2534	0.0007	3	0.7	0	0.1	0	0	0	0
26												
27	8.8	9	0.1653	0.0029	3	1.9	10.5	8	0.2787	0.0040	5	1.8
28	9.9	9	0.1749	0.0022	3	2.6						
29	9.8	7	0.1179	0.1413	11	5.9	8.0	5	0.1021	0.0336	4	5.7
30	7.0	7	0.1109	0.0076	5	4.0	6.9	6	0.0856	0.0171	4	3.1
31	15.4	8	0.3527	0.1415	5	3.8	12.7	6	0.1994	0.0528	6	5.5
32	10.0	6	0.1666	0.0627	11	5.4	11.8	6	0.1904	0.0195	5	4.7
33	9.3	7	0.1890	0.1569	4	5.5	6.8	7	0.1682	0.2239	13	7.3
34	0	0.1	0	0	0	0	4.7	7	0.1284	0.1060	23	7.8
35	3.4	8	0.1867	0.1418	11	5.9	3.5	9	0.1990	0.1478	6	7.3
36	3.3	5	0.1872	0.0405	6	2.1	4.8	10	0.2301	0.1003	20	9.0



FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS

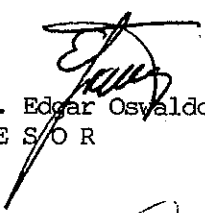
LA TESIS TITULADA: "EVALUACION DEL EFECTO DE MEDIOS DE CULTIVO, INTENSIDADES LUMINICAS DE INCUBACION Y EDADES DE SIEMBRA EN EL CULTIVO in vitro DE PAPA (Solanum tuberosum L.)"

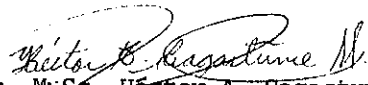
DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: WALTER NOE MUS COY

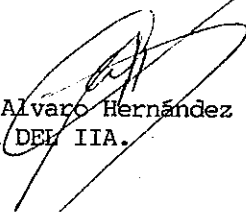
CARNET No: 9210290

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Manuel Martínez Ovalle  
Ing. Agr. Domingo Amador Pérez  
Ing. Agr. Estuardo Roca Canet

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

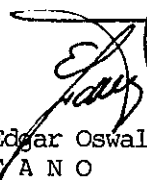
  
Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
A S E S O R

  
Ing. Agr. M.Sc. Héctor A. Sagastume Mena  
A S E S O R

  
Ing. Agr. M.Sc. Alvaro Hernández Dávila  
DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E

  
Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera  
D E C A N O



cc:Control Académico  
Archivo  
AH?pr.

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.  
TEL/FAX (502) 476-9794  
e-mail: [ilusac.edu.gt](mailto:ilusac.edu.gt) § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomfa.htm>

