

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

EFFECTO DE DOS REGULADORES OSMOTICOS EN LA CONSERVACION *in vitro* DE DIEZ CLONES 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

EDWIN LEONEL ARGUETA VENTURA

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA, MAYO DEL 2001

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
01
+ (1971)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

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

**Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera
Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada
Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello
Ing. Agr. Manuel de Jesús Martínez Ovalle
Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa
Prof. Abeiardo Caal Ich
Br. José Baldomero Sandoval Arriaza.**

Guatemala, mayo del 2001

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

Distinguidos miembros:

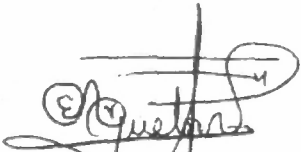
De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

EFFECTO DE DOS REGULADORES OSMOTICOS EN LA CONSERVACION *in vitro* DE DIEZ CLONES 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,


Edwin Leonel Argueta Ventura

ACTO QUE DEDICO

A:

- DIOS** Por darme la vida, sabiduría, la paciencia necesaria y las herramientas Indispensables para poder alcanzar el triunfo.
- MIS PADRES** Manuel Argueta Campos
Alma Maritza Ventura Alvarado
Como una muestra de agradecimiento por sus múltiples esfuerzos y sacrificios para mi formación.
- MIS HERMANOS** Mario Enrique y Manuel René
Como muestra de afecto al cariño sincero.
- MI ESPOSA** Martha María Mellado de Argueta
Agradecimientos especiales por su apoyo incondicional que me ha brindado, como una muestra del inmenso amor y por ser portadora de mi reflejo.
- MI HIJO** Roberto Carlos Argueta Mellado
Parte de mi vida, que mi triunfo sea un ejemplo para el futuro, que Dios te bendiga.
- MI SOBRINO** José Manuel
Con gran cariño, que Dios te bendiga.
- MIS SUEGROS** Anibal Antonio Mellado y Marta Eguizábal de Mellado
Como una muestra de agradecimiento a su apoyo y sus sabios consejos.
- MIS CUÑADAS** Ana Carolina, Karla Fabiola y Susely Martínez
Con cariño.
- MI FAMILIA EN GENERAL** Con cariño y respeto.
- LAS FAMILIAS** Lémus Galicia, Díaz Rivas, Bolaños Alvarado
Agradecimientos especiales.
- MIS MAESTROS** Agradecimientos por los conocimientos que me brindaron y por contribuir con mi formación, especialmente a la Profa. Olga de Araujo por la paciencia de enseñarme a leer y escribir.
- MIS AMIGOS** Luis Fernando Orellana, Juventino López, Federico Leal, Jorge Herrera, Kely Galicia, Estuardo Pérez, Erick Ortega, Gustavo Robles, Baldomero Sandoval, Henry Barco, Werner Marroquín, Washington de León, William Sánchez, Alex Rodas, Rigoberto Carrillo, Erick Bolaños, Jorge López, Antonio Moreno, especialmente a Lidia Galicia y Silvia de Barrios con gran aprecio y agradecimiento muy especial por su apoyo.

TESIS QUE DEDICO**A:**

GUATEMALA

CONGUACO, JUTIAPA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS

COLEGIO DE MAGISTERIO, JUTIAPA

INSTITUTO MIXTO DE EDUCACION BASICA POR COOPERATIVA
DE ENSEÑANZA, CONGUACO, JUTIAPA

ESCUELA NACIONAL URBANA MIXTA, CONGUACO, JUTIAPA

EL COROZAL, COBAN, ALTA VERAPAZ

TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON A MI
FORMACION

AGRADECIMIENTOS

A:

MIS ASESORES

Ing. Agr. MSc. Héctor Alfredo Sagastume Mena.
Ing. Agr. MSc. Domingo Amador
Ing. Agr. Luis Gerardo Molina

Por su incondicional aporte, para la realización y orientación de la presente investigación en bien de la educación.

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA DEL INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS (ICTA)

Por abrirme las puertas y por los recursos invertidos en la realización de la investigación.

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

Clara Vásquez, Julieta Batres, Miriam Rodríguez, Darío Fuentes, Martín Barrios, Juan Toj, Ing. Héctor Sagastume, Ing. Luis Molina, Ing. Nobuhisa Suzuki y al Ing. Kamada.

Por la muestra de compañerismo y su apoyo brindado.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	x
ABREVIATURAS	xi
RESUMEN	xiii
1. INTRODUCCION	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACION	3
4. MARCO TEORICO	4
4.1 Marco conceptual	4
4.1.1 Descripción del cultivo de la papa	4
4.1.1.1 Clasificación botánica	4
4.1.1.2 Origen del cultivo de la papa	5
4.1.1.3 Composición química de la papa	6
4.1.1.4 Características botánicas	7
4.1.1.5 Importancia del cultivo de la papa a nivel mundial	8
4.1.1.6 Importancia de la papa en Guatemala	9
4.1.1.7 Principales zonas de producción	9
4.1.1.8 El cultivo de tejidos vegetales	10
4.1.1.9 Explante	12
4.1.1.10 Asepsia	13
4.1.1.11 Medios de cultivo	13
4.1.1.12 Principales factores físicos del ambiente en los cultivos	17
4.1.1.13 Almacenamiento de germoplasma	19
4.1.1.14 Usos para micropropagación	19
4.1.1.15 Estrategias para la conservación <i>in vitro</i>	19
4.1.1.16 Aspectos importantes de la conservación <i>in vitro</i>	20
4.1.1.17 Métodos de conservación <i>in vitro</i>	21
4.1.1.18 Mantenimiento y almacenamiento a largo plazo	23
4.1.1.19 Azúcar como fuente de energía	23
4.1.1.20 Potencial de agua	24
4.1.1.21 Difusión	25
4.1.1.22 Osmosis	25
4.1.1.23 Potencial osmótico	26
4.1.1.24 Efecto osmótico de los ingredientes del medio	26
4.1.1.25 Regulación osmótica	27
4.1.1.26 Componentes que promueven la regulación osmótica	27
4.1.1.27 Disminución del potencial osmótico con otra sustancia osmótica	27
4.1.1.28 Senescencia y la inhibición de la división celular	28
4.1.1.29 Efecto osmótico sobre crecimiento y morfogénesis	28
4.1.1.30 Influencia del potencial osmótico en procesos celulares	28
4.1.1.31 El potencial osmótico del medio	29
4.2 Marco referencial	29
4.2.1 Características de los materiales experimentales	29
4.2.1.1 Clones de papa	29
4.2.1.2 Características del sorbitol y manitol	34
5. OBJETIVOS	35
6. HIPOTESIS	36
7. METODOLOGIA	37

7.1	Localización del área experimental	37
7.2	Material experimental	37
7.3	Equipo e insumos	37
7.4	Dosis de sorbitol y manitol	38
7.5	Metodología experimental	39
7.5.1	Manejo del experimento	39
7.5.1.1	Medio de cultivo	39
7.5.1.2	Preparación de soluciones madre	39
7.5.1.3	Preparación del medio de cultivo P2 de Ken Okabe	41
7.5.1.4	Preparación de medios de conservación	42
7.5.1.5	Selección del material experimental	42
7.5.1.6	Condiciones ambientales de incubación	43
7.5.1.7	Tratamientos	44
7.5.1.8	Diseño experimental	45
7.5.1.9	Modelo estadístico	45
7.5.1.10	Factores y niveles	45
7.5.1.11	Unidad experimental	46
7.5.1.12	Variables respuesta	46
7.5.2	Análisis de la información	47
8.	RESULTADOS Y DISCUSION	48
8.1	Altura de planta	48
8.1.1	Altura de planta según el clon	48
8.1.2	Altura de planta según interacción regulador por dosis	49
8.2	Número de entrenudos	55
8.2.1	Número de entrenudos según regulador osmótico	55
8.2.2	Número de entrenudos, para la interacción clon por dosis	56
8.3	Porcentaje de regeneración	57
8.3.1	Porcentaje de regeneración, según el factor clon	58
8.3.2	Porcentaje de regeneración, según el factor dosis	59
9.	CONCLUSIONES	62
10.	RECOMENDACIONES	63
11.	BIBLIOGRAFIA	64
12.	APENDICE	67

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1	Tratamientos por clon que fueron evaluados.	44
CUADRO 2	Análisis de varianza de la variable altura de planta.	48
CUADRO 3	Prueba de Duncan al 5%, según el factor clon, para la variable altura de planta.	49
CUADRO 4	Prueba de Duncan al 5%, para la interacción regulador por dosis, para la variable altura de planta.	50
CUADRO 5	Análisis de varianza de la variable número de entrenudos.	56
CUADRO 6	Prueba de Duncan al 5%, según regulador osmótico, para la variable número de entrenudos.	56
CUADRO 7	Prueba de Duncan al 5%, para la interacción clon por dosis de regulador, para la variable número de entrenudos.	57
CUADRO 8	Análisis de varianza de la variable porcentaje de regeneración.	58
CUADRO 9	Prueba de Duncan al 5%, según el factor clon, para la variable porcentaje de regeneración.	59
CUADRO 10	Prueba de Duncan al 5%, según el factor dosis, para la variable porcentaje de regeneración.	59
CUADRO 11A	Datos del experimento de la repetición 1 de los diez clones de papa.	68
CUADRO 12A	Datos del experimento de la repetición 2 de los diez clones de papa.	69
CUADRO 13A	Datos del experimento de la repetición 3 de los diez clones de papa.	70
CUADRO 14A	Datos del experimento de la repetición 4 de los diez clones de papa.	71
CUADRO 15A	Datos del experimento de la repetición 5 de los diez clones de papa.	72
CUADRO 16A	Datos del experimento de la repetición 6 de los diez clones de papa.	73
CUADRO 17A	Datos del experimento de la repetición 7 de los diez clones de papa.	74
CUADRO 18A	Datos del experimento de la repetición 8 de los diez clones de papa.	75
CUADRO 19A	Datos del experimento de la repetición 9 de los diez clones de papa.	76
CUADRO 20A	Datos del experimento de la repetición 10 de los diez clones de papa.	77
CUADRO 21A	Datos del porcentaje de regeneración de los diez clones de papa.	78

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Curva de crecimiento para el clon Ictafrit.	50
FIGURA 2	Curva de crecimiento para clon ICTA Chiquirichapa.	50
FIGURA 3	Curva de crecimiento para clon Amigo.	51
FIGURA 4	Curva de crecimiento para el clon Loman.	51
FIGURA 5	Curva de crecimiento para clon Floresta.	52
FIGURA 6	Curva de crecimiento para clon Atzimba.	52
FIGURA 7	Curva de crecimiento para el clon Lemhi Russet	53
FIGURA 8	Curva de crecimiento para el clon Xalapán.	53
FIGURA 9	Curva de crecimiento para el clon Atlantic.	54
FIGURA 10	Curva de crecimiento para el clon Tollocan.	54

ABREVIATURAS

AG	Ácido giberélico
B5	Medio de cultivo de Gamborg et al. (1968)
BAP	Bencilaminopurina
C. V.	Coefficiente de variación
CIP	Centro Internacional de la Papa
CH	Caseína hidrolizada
cm	Centímetro
DBCA	Diseño bloques completos al azar
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
g	Gramos
g/l	Gramos por litro
HCl	Ácido clorhídrico
ICTA	Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas
l	Litros
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MS	Medio de Murashige y Skoog (1962)
msnm	metros sobre el nivel del mar
NS	No significativo
°C	Grados centígrados
p/p	Peso sobre peso
P2	Medio de cultivo PAPA 2 desarrollado por Ken Okabe
ppm	Partes por millón

PR	Porcentaje de regeneración
ton/ha	Toneladas por hectáreas
v/v	Volumen sobre volumen
W	Watt
W/m ²	Watts por metro cuadrado
%	Por ciento
kP	Kilo-poundal

EFFECTO DE DOS REGULADORES OSMOTICOS EN LA CONSERVACION *in vitro* DE DIEZ CLONES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

EFFECT OF TWO OSMOTIC REGULATORS ON THE *in vitro* CONSERVATION OF TEN POTATO (*Solanum tuberosum* L.) CLONS.

RESUMEN

En Guatemala, la papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye un alimento muy consumido por la población, sus usos son variados y al igual que el maíz y el frijol, forman parte importante en la dieta básica alimenticia, ocupando el tercer lugar a nivel nacional y el quinto lugar a nivel mundial.

Actualmente la conservación de los 45 clones de papa con que cuenta la colección del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), se realiza mediante el cultivo *in vitro*, utilizando un medio de propagación en el cual las plantas se desarrollan a una tasa de crecimiento tal que es necesario un subcultivo cada 30 días. No obstante, aun no se ha realizado una evaluación científica cuidadosa de las ventajas y desventajas de una estrategia *in vitro* que permita la preservación de recursos genéticos para cada caso específico, por más tiempo.

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del ICTA, el cual tuvo como objetivo evaluar el efecto de dos reguladores osmóticos sorbitol y manitol en la conservación *in vitro* de diez clones de papa.

Para lo cual se realizó un experimento trifactorial, utilizando un diseño de bloques completos al azar con arreglo combinatorio de los tratamientos, se evaluaron seis tratamientos por los que suman 60 tratamientos por bloque, se hicieron diez repeticiones sembrando una repetición por día, para hacer un total de 600 unidades experimentales. Las variables de respuesta fueron: altura de planta, número de entrenudos y porcentaje de regeneración.

Las variables de respuesta se analizaron simultáneamente para los diez clones evaluados, considerados como la colección activa, con lo cual se determinó que para la conservación adecuada *in vitro* de los clones de papa el regulador que mejor funcionó es el sorbitol con una dosis específica de 30 g/l.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) en Guatemala constituye un alimento muy consumido por la población, sus usos son variados y al igual que el maíz y frijol constituyen parte importante en la dieta básica alimenticia, ocupando el tercer lugar a nivel nacional (9).

El cultivo de la papa en Guatemala está principalmente en manos de pequeños agricultores. El área aproximada de siembra es de 9,440 ha, la producción nacional es de aproximadamente 221,235 toneladas anuales; exportándose 33,845 toneladas al año (9).

La papa ocupa el quinto lugar en importancia y producción alimenticia a nivel mundial, superada únicamente por los cultivos de trigo, arroz y maíz y cebada. Se encuentra cultivada en un 79% de los países del mundo (19, 28).

La investigación sirvió para evaluar el efecto de dos reguladores osmóticos, recomendados por el Centro Internacional de la Papa (CIP), para la conservación *in vitro* de germoplasma de papa. Se evaluaron otras dosis, siendo estas: sorbitol y manitol al 3%, 4% y 5 % cada uno, tomando lo recomendado por el CIP (4%) como el testigo, evaluando la influencia de los seis tratamientos sobre la parte vegetativa (altura de planta, número de entrenudos y el porcentaje de regeneración) en los 10 clones de papa.

Para el experimento se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), en arreglo combinatorio de los tratamientos, con 10 repeticiones por tratamiento.

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), con la finalidad de conservar adecuadamente los clones de papa.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

En el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) para la Micropropagación de clones de papa (*Solanum tuberosum* L.) invierten muchos recursos en medios de cultivos, mano de obra, tiempo y espacio. La necesidad de mantener clones seleccionados de especies vegetales para su propagación hizo posible formar la colección de cuarenta y cinco clones de papa, los cuales se utilizan para la producción de semilla libre de patógenos.

Actualmente la conservación de estos clones de papa se realiza mediante el cultivo *in vitro* utilizando un medio de propagación en el cual las plantas se desarrollan a una tasa de crecimiento tal, que es necesario un subcultivo cada 30 días a un costo anual de Q 8,467.20.

Tomando en cuenta que se pretende incrementar la colección; esta situación implicará una mayor inversión de recursos. Desde el trabajo iniciado en los años 90, hasta ahora se ha logrado un notorio progreso. No obstante, aun no se ha realizado una evaluación científica cuidadosa de las ventajas y desventajas de una estrategia *in vitro* que permita la preservación de recursos genéticos para cada caso específico, por más tiempo.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) se cuenta con una colección de cuarenta y cinco clones de papa. La necesidad de mantener clones seleccionados de especies vegetales para su distribución sana, a programas de investigación agrícola, estimuló algunos de los primeros estudios sobre el mantenimiento *in vitro* de germoplasma de papa en el Centro Internacional de la Papa (CIP).

El desarrollo de una técnica eficiente para la conservación *in vitro* de germoplasma facilitará el esfuerzo del Laboratorio de Biotecnología en la producción de vitroplantas de papa, lo que a su vez servirá para fortalecer al Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) en su labor de abastecer a los agricultores principales productores de dicho cultivo, con semilla de alta calidad y de esta forma reducir considerablemente la inversión.

Tomando en cuenta que el cultivo de la papa es sumamente importante a nivel nacional ya que generó divisas que ascienden a US\$3,561,900 en el año de 1,999; con un área cosechada de 9,440 ha. y una producción de 221,235 toneladas (7); razón por la cual se pretende conservar semilla libre de patógenos, considerando que la papa actualmente es sembrada en la zona occidental, zona central y zona oriental, 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 obtenidas por cultivo de tejido de los clones de papa.

El crecimiento rápido de los cultivos a tasas normales exige más mano de obra y aumenta la posibilidad de pérdidas debidas a accidentes o a contaminación microbiana durante la repetición continua de los subcultivos; es necesario entonces reducir al mínimo la frecuencia de los subcultivos, con lo que se logra además minimizar la posibilidad de variación genética.

4. MARCO TEORICO

4.1 MARCO CONCEPTUAL

4.1.1 DESCRIPCION DEL CULTIVO DE LA PAPA

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta dicotiledónea, herbácea, suculenta y de características anuales por su parte aérea, y perenne por sus tubérculos (tallos subterráneos), que se desarrollan al final de los estolones que nacen del 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 (10, 11, 12, 24).

Entre las muchas especies en el género *Solanum*, aproximadamente 150 producen tubérculos, varios de los cuales (algunos híbridos interespecíficos) son cultivados como plantas alimenticias. *Solanum tuberosum* tiene 2 subespecies: *tuberosum* y *andígena* (8).

La subespecie *andígena* es cultivada en áreas elevadas de América del Sur, los tubérculos son de forma irregular y tienen ojos profundos. De las especies de papa cultivadas, aparte de *Solanum tuberosum*, *S. pureja* es prominente, ésta es cultivada en los valles montañosos de América del Sur (8).

Solanum tuberosum subespecie *tuberosum* es tetraploide y preferida entre otras *Solanum* tuberosas. Es fácilmente propagada vegetativamente (8).

4.1.1.1 CLASIFICACION BOTANICA

DIVISION	Tracheophyta
SUBDIVISION	Pynophyta (Gymnospermae)
SUBCLASE	Dicotiledóneas
ORDEN	Polemoniales
FAMILIA	Solanaceae
GENERO	<i>Solanum</i>
ESPECIE	<i>Tuberosum</i> (17).

4.1.1.2 ORIGEN DEL CULTIVO DE LA PAPA

El origen de la papa se sitúa en la región Andina de Suramérica, en las altas mesetas de la cordillera de los Andes (2, 3, 27). Se cree que fue cultivada a la vecindad del lago Titicaca en los bordes de Perú y Bolivia (3).

Ducreux (5) encontró documentos arqueológicos y étnicos que señalan que las poblaciones Andinas al Sur de Perú empezaron a comer papas silvestres hace 3,000 a 4,000 años antes de nuestra era, lográndose su domesticación antes de la llegada de los Incas.

La papa fue diseminada a casi todo el mundo desde Suramérica, introduciéndose a Europa hacia el año de 1570, luego a Irlanda. Sin embargo, la aceptación de la papa no fue del todo buena al considerarse que era alimento para animales, mendigos, e incluso se creía que producía lepra. Actualmente, su consumo se ha popularizado y forma la base de la dieta de muchos países en el mundo, hasta el grado que en 1840 su escasez causó hambrunas extremas que provocaron la muerte de millares de personas en Irlanda, suceso conocido como "La hambruna de la papa", a causa de la susceptibilidad de los clones de papa al hongo *Phytophthora infestans* (Tizón Tardío), hongo que se constituyó en el causal de la enfermedad más importante de la papa en el mundo (3, 5).

De Candolle (1883), citado por Montaldo (24); 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 que la papa sea originaria de América, lo que se necesita es determinar de qué parte de éste vasto continente es. Sin embargo, existen evidencias arqueológicas que demuestran 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, México y Guatemala.

4.1.1.3 COMPOSICION QUIMICA DE LA PAPA

A. Carbohidratos

Los carbohidratos de la planta incluyen almidón, celulosa, glucosa, sacarosa y pectinas. Los almidones de la papa son: amilosa y amilopectina en la proporción de 1:3. El contenido de carbohidratos y proteínas de las papas frescas es mucho menor que el de los cereales, la cocción reduce las diferencias (24).

B. 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 (28).

C. Proteína

Bechara et al. (1967), citados por Horton (19), 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 a 2% de nitrógeno total en el producto seco; de este nitrógeno 1/2 ó 1/3 está presente como proteína ($N \times 6.25$). Las proteínas de la papa son casi todas 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 (19).

D. Fibra

El contenido en fibra de las variedades de papa tienen valores que oscilan de 1 a 10%, con un valor normal aproximado de 2 a 4% de materia seca. Bajo la denominación de fibra se incluye: fibra cruda, celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas (24).

E. Alcaloides

Los glicoalcaloides solanina y chaconina, en dosis bajas, son consideradas constituyentes normales del tubérculo de papa (29).

F. Vitaminas

La papa es una buena fuente de vitamina C, es regular en niacina y tiamina, y relativamente baja en vitamina A y riboflavina (24).

G. Grasa

El contenido de grasa de la papa es muy bajo y llega a 0.1% del peso fresco (24).

4.1.1.4 CARACTERÍSTICAS BOTANICAS

Existe una gran variedad de subespecies y cultivares que poseen características particulares, de las cuales algunas están claramente diferenciadas y otras aún conservan la propiedad de poderse mezclar. Los aspectos generales se definen a continuación:

- **Flores:** la inflorescencia es cimosa; las flores son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es gamosépalo 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.
- **Frutos:** el fruto es una baya bilocular de 15 a 30 mm de diámetro, color verde, verde amarillento o verde azulado. Cada fruto contiene aproximadamente 200 semillas.
- **Tallo:** posee tallos de forma angular, herbáceos cuando jóvenes y leñosos cuando adultos. El tubérculo de papa es un tallo ensanchado, en la superficie posee yemas axilares en grupos de 3 a 5 y protegidas por hojas escamosas (ojos). 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.

- **Yemas:** una yema representa una rama lateral del tallo subterráneo. La yema apical del extremo distal es la que primero se desarrolla y domina el crecimiento de todas las otras. A éste fenómeno se le ha denominado *dominancia apical*.
- **Hojas:** las hojas son alternas, igual que los estolones. Las primeras hojas tienen aspecto de simples, vienen después de las hojas compuestas, imparipinadas con 3 a 4 pares de hojuelas laterales y una hojuela terminal. Entre las hojuelas laterales hay hojuelas pequeñas de segundo orden.
- **Raíces:** las raíces se desarrollan principalmente en verticilo, en los nudos del tallo principal. Su crecimiento es primero vertical, dentro de la capa del suelo arable, luego horizontal de 25 a 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 (3, 5, 18).

4.1.1.5 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE LA PAPA A NIVEL MUNDIAL

La papa es una parte integral de la dieta alimenticia de una gran proporción de la población mundial, por lo cual se le cataloga como un cultivo de importancia mundial. Debido a su producción se encuentra en el quinto lugar entre los cultivos de mayor importancia detrás del: trigo, arroz, maíz y cebada. Su rendimiento en proteína excede a éstos cultivos en los factores siguientes: trigo, 2.2; arroz, 1.33; y maíz, 1.3 (3, 15, 16).

La papa contiene minerales y 12 vitaminas esenciales, incluyendo una alta cantidad de vitamina C. Una papa de un mediano tamaño contiene por lo menos el 65% de vitamina recomendada por U.S. Federal (15).

La papa constituye una fuente rica en almidón (fécula), que es la fuente de materia prima para producir dextrina, harina para galletas, repostería, pastelería, aguardiente (como el Vodka o el

Aguavit), excipiente para comprimidos, producción de engrudo, fabricación de papel (como el Couche y Kraft), para la fabricación de conglomerados de madera y otros (5, 18).

4.1.1.6 IMPORTANCIA DE LA PAPA EN GUATEMALA

A nivel nacional la papa ocupa el tercer lugar entre los principales productos de consumo, precedido por el maíz y el frijol. En 1999 el área cosechada fue de 9,440 hectáreas, aproximadamente, con una producción de 221,235 toneladas de papa. Su mayor importancia radica en generar divisas para el país, reportándose en el mismo año un volumen de 33,845 toneladas de papa exportadas con un valor de \$ 3,561,900 (9).

4.1.1.7 PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCION

El país está dividido en tres zonas de siembra, la zona occidental, la zona central y la zona oriental; de las que se describen los departamentos y municipios más importantes:

A. ZONA OCCIDENTAL

- **QUETZALTENANGO:** Concepción Chiquirichapa, Almolonga, Zunil, San Martín Sacatepéquez y Cajolá.
- **TOTONICAPAN:** San Francisco el Alto, San Cristóbal y San Andrés Xecul.
- **HUEHUETENANGO:** Todos Santos Cuchumatanes, San Juan Ixcoy y San Mateo Ixtatán.
- **QUICHE:** Chichicastenango, San Antonio Ilotenango y Patzité.
- **SAN MARCOS:** San Lorenzo, Comitancillo, Ixchiguán, Tacaná, Tejutla, San José Ojotenan, Concepción Tutuapa, San Pedro Sacatepéquez y la parte alta de San Marcos.

B. ZONA CENTRAL

- **SACATEPEQUEZ:** Antigua Guatemala, Sumpango y Santa Lucía Milpas Altas.
- **GUATEMALA:** Palencia, San José Pinula, Villa Nueva, San José del Golfo.

C. ZONA ORIENTAL

- **SANTA ROSA:** Santa María Ixhuatán, San Rafael Las Flores.
- **JALAPA:** Mataquescuintla, San Carlos Alzatate, Monjas.
- **JUTIAPA:** Algunas aldeas de las regiones altas (10, 11, 12).

4.1.1.8 EL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

A. ANTECEDENTES HISTORICOS

La técnica del cultivo de tejidos se basa en el cultivo de explantes de planta en medios sintéticos con condiciones controladas, con el objeto de proveer al explante un ambiente similar al que tendría en condiciones naturales o se define como: "el cultivo de células, tejidos y órganos extraídos de plantas, que se mantienen bajo condiciones artificiales y permite reproducir plantas que poseen todas las características de las plantas madre", o sea que 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 XX consiguió cultivar células animales *in vitro* (4, 30, 32).

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 por Morgan en 1901 (4, 7, 27).

El desarrollo histórico del cultivo de tejidos está lleno de descubrimientos que han tenido una aplicación casi inmediata a la mayoría de las ciencias básicas, tales como: la Fitopatología, Entomología e Ingeniería Genética, entre otras. Actualmente constituye una herramienta en el estudio de una serie de fenómenos celulares que no fueron bien comprendidas anteriormente, tales como las interrelaciones entre los tejidos y las correlaciones que se dan en órganos, el papel de algunos componentes y otros que solamente bajo condiciones *in vitro* pueden ser analizados al eliminar una serie de factores que interfieren bajo condiciones *in situ*. Haberlandt, en 1902, fue el pionero en el intento de cultivo de células vegetales *in vitro*. Pero hubo que esperar a que J. P. White, en 1934, resolviera el problema al lograr cultivar células de ápices de raíces de tomate (23, 35).

La aplicación de la técnica tuvo lugar cuando White observó que los meristemos apicales de las raíces de tomate subcultivados regularmente sobre un medio de cultivo estaban generalmente indemnes a los virus (23, 30).

El cultivo de tejidos permite la propagación clonal rápida de un gran número de plántulas en un período breve, y la conservación de germoplasma de papa bajo condiciones controladas, en espacios pequeños y con poca mano de obra (6).

B. VENTAJAS DEL CULTIVO DE TEJIDOS

- **Propagación acelerada:** es posible, teóricamente, poder obtener en el término de nueve 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. El cultivo de tejidos permite hacer uso del área vertical, acumulando varios niveles para el efecto.
- **Disponibilidad inmediata y permanente:** permite el acceso oportuno a la micropropagación en épocas en que las condiciones del campo no son las adecuadas.

- **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 (22, 23, 30).

El Centro Internacional de la Papa (CIP) mantiene una colección de germoplasma de papa de, aproximadamente, 6,000 clones. Esta colección es considerada como fuente de diversidad genética aprovechable por los fitomejoradores en los programas de investigación de la papa. La colección en el campo está expuesta a una amplia gama de riesgos como: enfermedades infecciosas o condiciones climáticas adversas y su mantenimiento en el campo es costoso. La colección de germoplasma *in vitro* posee varias ventajas sobre el mantenimiento en el campo, las que se detallan a continuación:

- Menores costos de mano de obra.
- Disponibilidad permanente de material para exportación.
- Acceso oportuno a material para eliminación de patógenos.
- Ausencia de infecciones de campo.
- Ausencia de peligros ambientales como granizadas y heladas (4).

4.1.1.9. 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 (34).

La elección de un explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos; la 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 una fuente rica de explantes (25, 34).

4.1.1.10 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 (hongos y bacterias), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Uno de los principales aspectos básicos que se debe tener en cuenta para el éxito es evitar contaminaciones con microorganismos, no solamente en el proceso de establecimiento de los cultivos sino también en los procesos de incubación y manipulación (25).

Para establecer cultivos asépticos es conveniente y/o necesario tomar en cuenta lo siguiente:

- Trabajar en ambientes adecuados.
- Esterilizar adecuadamente los medios de cultivo.
- Desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos.
- Realizar los cultivos respetando ciertas normas de asepsia (25).

4.1.1.11 MEDIOS DE CULTIVO

A. Reguladores del crecimiento

En el cultivo de tejidos se utilizan propiamente cuatro grupos (7).

a. Auxinas: las auxinas comprenden una gran familia de sustancias que tienen en común la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular, mas sin embargo, se ha encontrado al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos (7). Entre las principales auxinas tenemos: AIB (ácido indolbutírico), que se utiliza en un rango de 0.1 a 10 mg/l; AIA (ácido indolacético) que se utiliza en un rango de 0.1 a 10 mg/l; PCA (ácido paracloro fenoxiacético), que se utiliza en un rango de 0.001 a 10 mg/l; ANA (ácido naftalenacético) y el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) (6). Existen varias auxinas denominadas "auxinas naturales", estas incluyen AIA el cual es un compuesto de mayor utilización entre las auxinas naturales, indol-3-acetonitrilo, etilindol-3-acetato, indol-3-carboxialdehido, indol-3-acetaldehido, indol-3-acetamida, ácido indol-3-carboxílico, ácido indol-3-propiónico, ácido 5-hidroxilindol-3-acético, ácido indol-3-acetil-aspartico y otras (7).

b. Citocininas: Skoog *et al.* (1955) propusieron el término *cinica* 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 *cinica*, según se utiliza en los sistemas animales, un poco más tarde se adoptó la palabra *citocinina* para designar las sustancias de división celular (18). Las citocininas promueven la división celular y organización de callos. Las más utilizadas son: BAP (bencilaminopurina) o BA (benciladenina); cinetina y zeatina, en concentraciones de 0.03 a 30 mg/l. La BA es la citocinina de empleo más generalizada. La cinetina estimula la formación de brotes y yemas adventicias.

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 (18). El ácido giberélico promueve la elongación y reprime la formación de brotes de cualquier clase de tejido organizado (21).

d. Acido abscísico: este ácido se utiliza en casos muy especiales, ya que estimula la sincronización durante la etapa de embriogénesis en diferentes cultivos, también inhibe el crecimiento (7).

B. Interacción de reguladores de crecimiento

En micropropagación, principalmente, se utilizan citocininas y auxinas como reguladores de crecimiento. Pero lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas (34).

C. Aminoácidos

Ningún aminoácido es esencial para el crecimiento de tejidos *in vitro*, sin 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 (7).

Las funciones principales de los aminoácidos en los sistemas *in vitro* son: la glutamina y asparagina son transportadores de nitrógeno; L-arginina estimula la formación de raíces; L-serina es empleada en cultivo de microsporas; y L-cisteína es un agente reductor (7).

D. 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 benéficos 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: tiamina (vitamina B₁) se añade como tiamina HCl en cantidades que varían de 0.1 a 30 mg/l. Esta es realmente la vitamina esencial para el crecimiento de células vegetales. Acido nicotínico (niacina); piridoxina (vitamina B₆): 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. Vitamina E: ayuda a la formación de callos que provienen de embriones y, en cultivos en suspensión, ayuda a la viabilidad de células. El ácido pantoténico ayuda al crecimiento de ciertos cultivos. El ácido fólico disminuye la proliferación de tejido en la oscuridad, mientras que en la luz aumenta, esto es debido a que en presencia de luz es hidrolizado a ácido p-aminobenzóico y la riboflavina que es un inhibidor del crecimiento de raíces (7).

E. Carbohidratos

Los carbohidratos son utilizados frecuentemente como fuente de energía y como "reguladores osmóticos". La sacarosa es el azúcar empleado universalmente. A la sacarosa le siguen, en importancia, la glucosa, maltosa, rafinosa, lactosa, manosa, fructosa y galactosa (7).

F. Agua

El agua es utilizada para la preparación de soluciones. Necesariamente el agua debe ser bidestilada, tridestilada y/o desmineralizada. De cualquier manera el empleo de un destilador de vidrio es requerido en el proceso de la destilación final del agua (7).

G. Sales inorgánicas

a. **Macronutrientes:** los tejidos en cultivo requieren de una fuente continua de compuestos inorgánicos. Además del carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O), los elementos más requeridos, principalmente, son: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) (7).

b. **Micronutrientes:** para una adecuada actividad metabólica las células vegetales requieren de cierta cantidad de micronutrientes. Los más esenciales son: hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), boro (Bo), cobre (Cu), cobalto (Co) y molibdeno (Mo). Los últimos cinco elementos son fundamentales para la síntesis de clorofila y la función de los cloroplastos (7).

H. Agentes solidificantes

Comunmente se ha utilizado el agar como un sistema de soporte para la preparación de medios sólidos o semisólidos. Las principales ventajas que representa el agar son:

- a. El agar no es alterado por las enzimas vegetales.
- b. El agar no reacciona con los constituyentes del medio.
- c. El agar no interfiere con la movilización de los constituyentes del medio.
- d. El agar con el agua 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.

Otros compuestos se han empleado para substituir el agar, sin embargo, pocos han tenido éxito. Posiblemente el compuesto que más popularidad ha alcanzado es el "Gelrite" (7).

I. Suplementos no definidos

Algunos de los suplementos más utilizados son:

- 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 (7, 20, 21).
- b. **Caseína hidrolizada (CH):** la CH digerida enzimáticamente se ha utilizado de forma rutinaria como un suplemento de medios de cultivo para plantas. Esta caseína es preferida porque la hidrólisis ácida destruye todo el triptófano presente en la sustancia (20).
- c. **Agua de coco:** el agua de coco es un medio 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 agua de coco 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. Su contenido de azúcar es de alrededor de 2.5% (20, 21).
- d. **Absorbentes:** uno de los principales absorbentes es el carbón activado (7).
- e. **Antioxidantes:** uno de los compuestos más utilizados como antioxidante es el ácido ascórbico (7).

4.1.1.12 PRINCIPALES FACTORES FISICOS DEL AMBIENTE EN LOS CULTIVOS

Entre los principales factores físicos del ambiente de los cultivos se encuentran: **luz y temperatura** (33).

La humedad relativa casi siempre es cercana al 100% en los recipientes de cultivo (34).

Entre los aspectos relacionados con la luz se mencionan los siguientes:

A. Necesidad de luz

Los requerimientos de luz se dividen en diferentes parámetros:

- a. Intensidad luminosa por unidad de superficie expresada en W/m cuadrado.
- b. Período de iluminación o la duración de iluminación expresada en horas/día.
- c. Calidad espectral de luz recibida (33, 34).

B. Requerimientos de luz de las plantas

El crecimiento y desarrollo de las plantas depende considerablemente del factor luz.

Procesos en los cuales influye la luz:

- a. Fotosíntesis
- b. Fototropismo
- c. Fotomorfogénesis

La fotosíntesis, el fototropismo y la fotomorfogénesis son facilitados por pigmentos que se encuentran en los tejidos, los cuales absorben la radiación con determinada longitud de onda (8).

C. Influencia de la luz en el cultivo de tejidos

Las dos cualidades de la luz que tienen mayor influencia en el crecimiento y la morfogénesis *in vitro* son:

- a. Longitud de onda (azul y cercano a luz ultravioleta)
- b. Fotoperíodo (8).

D. Influencia de la temperatura

La temperatura de los cuartos de incubación de tejidos se regula en forma constante de 22 a 25 grados centígrados. En la práctica se regula la temperatura del cuarto en dos grados centígrados por debajo de la que se desee para los tejidos cultivados, puesto que la temperatura real de los tejidos en el interior de los recipientes de cultivo puede ser mayor en dos o en cuatro grados centígrados a la del cuarto (33).

4.1.1.13 ALMACENAMIENTO DE GERMOPLASMA

Los sistemas *in vitro* para el almacenamiento y preservación de germoplasma de papa, ha recibido considerable atención en años recientes, y prácticas alternativas a medios convencionales de almacenamiento de material vegetativo son ahora posibles. La crioconservación y el crecimiento mínimo almacenado tienden a ser aplicados en el cultivo de la papa, con resultados generalmente satisfactorios. Estos resultados positivos indican el excelente potencial de criopreservación de meristemas para el almacenamiento de esquejes de germoplasma de papa (15).

4.1.1.14 USOS PARA MICROPROPAGACION

Los usos principales para cultivo de tejidos son para obtener y multiplicar cepas libres de virus y para la multiplicación inicial de nuevas variedades. Las técnicas de propagación *in vitro*, están ahora empezando a emplearse justamente en áreas cultivadas de papa. El cultivo de tejidos es de considerable valor para reproductores de papa y permitiendo que las colecciones de germoplasma de papa almacenadas sean preservados (8).

4.1.1.15 ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACION *in vitro*

Es grande el rango de especies vegetales cultivadas cuya conservación es accesible a las técnicas *in vitro* de los cultivos propagados vegetativamente y los cultivos propagados sexualmente. La conservación de los recursos fitogenéticos mediante los métodos del cultivo *in vitro* se logra haciendo cambios en el ambiente de cultivo para desacelerar o suprimir totalmente el crecimiento de las células y de los tejidos; el objetivo es aumentar al máximo el período de transferencia del cultivo o

extenderlo indefinidamente. No obstante, debe realizarse una evaluación científica cuidadosa de las ventajas y desventajas de una estrategia *in vitro* de la conservación de recursos genéticos para cada caso específico de cultivos y su propagación (29).

Se han propuesto dos tipos de conservación *in vitro* de los bancos genéticos: a) el banco genético *in vitro* activo (IVAG, en inglés) donde los cultivos se mantienen en crecimiento lento, y b) el banco genético *in vitro* básico (IVBG, en inglés) donde los cultivos son crioconservados. El IVAG se está desarrollando, en alto grado, para las especies de yuca, papa, banano, batata y caña de azúcar, y constituye una colección de trabajo; su contraparte estaría representada por la colección de campo y por la colección de semilla sexual almacenada a corto plazo. El IVBG constituye una colección básica, es decir, conservada en plazos largos y no activa y de trabajo, ya que la criopreservación no se ha desarrollado aún plenamente en ningún cultivo; este banco permite un mantenimiento total de la estabilidad genotípica del germoplasma, y su contraparte estaría representada por la colección de semilla sexual mantenida bajo almacenamiento a largo plazo (29).

4.1.1.16 ASPECTOS IMPORTANTES DE LA CONSERVACION *in vitro*

A. Regeneración

La regeneración de las plantas enteras basada en los sistemas de cultivo de células es, a menudo, el paso que limita la aplicación de técnicas de cultivo *in vitro* a especies vegetales que no se pueden propagar mediante meristemos preformados. La regeneración reproducible de plantas enteras sigue siendo problemática (29).

B. Viabilidad

La evaluación de la viabilidad de los cultivos *in vitro* se debe realizar sistemáticamente. En condiciones de crecimiento lento, en que el período de transferencia se extiende durante meses o años, la frecuencia de evaluación de cultivos aumenta en comparación con la evaluación que se haría al material conservado bajo nitrógeno líquido, por ejemplo (29).

C. Estabilidad genética

La estabilidad genética de los cultivos ha sido, durante mucho tiempo, un motivo de inquietud cuando se piensa aplicar las técnicas *in vitro* para la conservación del germoplasma. El material recuperado de la conservación *in vitro* debe representar genéticamente al material utilizado (29).

Según Withers, 1988, citado por Roca (29), cualquier sistema de cultivo *in vitro* será inaceptable si introduce un alto riesgo de inestabilidad genética o de selección entre genotipos o de ambas cosas.

Por otra parte, en los procesos de renovación de cultivos (subcultivos) del material conservado bajo crecimiento lento, hay posibilidades de seleccionar los explantes mejores o más vigorosos por parte de la persona que realiza estos procesos (29).

D. Sistematización de la información

Un banco genético *in vitro* debe mantener y actualizar continuamente una base de datos computarizada que contenga información relacionada con todos los aspectos de la conservación *in vitro* y con las áreas de investigación asociadas (29).

4.1.1.17 METODOS DE CONSERVACION *in vitro*

Existen dos sistemas básicos de conservación de germoplasma *in vitro*, uno mediante la limitación del crecimiento hasta tasas mínimas, y otro mediante la supresión total del crecimiento y del metabolismo celular (29).

A. Limitación del crecimiento

El crecimiento rápido de los cultivos a tasas normales exige más mano de obra y aumenta la posibilidad de pérdidas debidas a accidentes o a contaminación microbiana durante la repetición continua de los subcultivos; es necesario entonces reducir al mínimo la frecuencia de los subcultivos, con lo que se logra, además, minimizar la posibilidad de variación genética (29).

La tasa del crecimiento de los cultivos *in vitro* puede controlarse empleando, principalmente, los siguientes factores: temperatura, nutrimentos inorgánicos y orgánicos, reguladores del crecimiento y concentración osmótica del medio (29).

- a) **Temperatura:** la reducción de la temperatura ha sido el recurso más comúnmente utilizado para disminuir el crecimiento de los cultivos. La mayoría de los cultivos *in vitro* son mantenidos a temperaturas entre 20 y 30 grados centígrados; a temperaturas más bajas la tasa de crecimiento disminuye, pero ésta reducción depende de las especies en cuestión (29).
- b) **Concentración de nutrimentos:** la relación entre la concentración de carbohidratos y los componentes nitrogenados del medio nutritivo puede tener efectos sobre las tasas de crecimiento y la morfogénesis en los cultivos *in vitro*. La sacarosa tiene, igualmente, un efecto en la viabilidad de los cultivos: concentraciones muy altas o muy bajas de ese azúcar resultan nocivas para la conservación de los tejidos *in vitro* (29).
- c) **Concentración de los reguladores del crecimiento:** los niveles de citoquininas y de inhibidores del crecimiento, como el ácido abscísico, interaccionan con la concentración de sacarosa y con la temperatura de conservación y afectan así la viabilidad de los cultivos *in vitro* (29).
- d) **Concentración osmótica:** la limitación del crecimiento por causa de la concentración osmótica se debe, posiblemente, a la reducción de la absorción de agua y de nutrimentos del medio. Puesto que es altamente metabolizable, la sacarosa actúa osmóticamente en concentraciones altas. Otros agentes osmóticos difíciles de metabolizar, como el manitol y el sorbitol, son, posiblemente, más efectivos que la sacarosa en la limitación del crecimiento de los cultivos, pero se debe tomar en cuenta que estas sustancias interaccionan con el contenido de sacarosa y con la temperatura de conservación (29).

B. Supresión del crecimiento

Como se discutió anteriormente, siempre existe un riesgo mayor o menor, de inestabilidad citogenética cuando se conserva el germoplasma mediante el cultivo de tejidos *in vitro* a largo plazo.

Este riesgo se puede minimizar utilizando tejidos organizados (meristemos, yemas y cultivos derivados) y reduciendo la tasa de crecimiento mediante la temperatura (29).

4.1.1.18 MANTENIMIENTO Y ALMACENAMIENTO A LARGO PLAZO

El material *in vitro* puede ser conservado en cultivo indefinidamente si se evita la contaminación y se transfiere a medios frescos cada cierto tiempo. Se puede mantener en reserva el material de sanidad comprobada para utilizarlo en el futuro. La tasa de crecimiento de las plantas depende de la temperatura de incubación, la composición de los medios y la variedad de la planta. De allí que se requieran, para un almacenamiento a largo plazo, modificaciones de los medios y de la temperatura de incubación (6).

Para la conservación de papa se utiliza el medio MS más los siguientes ingredientes: 4.0% de sorbitol + 2.0% de sacarosa + 0.8% agar, que reduce la tasa de crecimiento por la "alta presión osmótica", produciendo entrenudos cortos. Este medio puede ser utilizado para un almacenamiento a 25 grados centígrados y el material sólo necesita ser transferido una vez al año (6).

En las condiciones de almacenamiento mencionadas en los párrafos anteriores es posible mantener una colección de germoplasma. Cuando llega un pedido de exportación de un genotipo en particular, este puede ser sacado del almacenamiento para efectuar la micropropagación (6).

Para la conservación a largo plazo también se puede utilizar el medio MS más los siguientes ingredientes: 4.0% de manitol + 3.0% de sacarosa + 0.8% de agar (6).

4.1.1.19 AZUCAR COMO FUENTE DE ENERGIA

A. Carbohidratos autótrofos

Solamente un limitado número de células de plantas tienen líneas, las cuales son autotróficas cuando se cultivan *in vitro*. Las células autotróficas son capaces de suministrar completamente su propio carbohidrato necesario por dióxido de carbono asimilado durante la fotosíntesis. Muchos cultivos autotróficos tienen solamente capacidad de crecimiento relativamente lento, especialmente en la atmósfera ambiental cuando la concentración de dióxido de carbono es bajo (8).

Normalmente para el cultivo de cualquier célula, tejido u órgano es necesario incorporar una fuente de carbono dentro del medio. La sacarosa es casi universalmente utilizada tanto para propósitos de micropropagación como utilizable generalmente para cultivo de tejidos. El azúcar blanca refinada doméstica es suficientemente pura para la mayor parte del propósito de éstas prácticas. La presencia de sacarosa en medios de cultivo de tejido inhibe específicamente la formación de clorofila y la fotosíntesis, haciendo el crecimiento autotrófico poco factible (8).

B. Azúcares alcohol

Los azúcares alcohol no son usualmente metabolizados para tejidos de las plantas y generalmente no pueden ser usados como fuente de carbono. Por ésta razón el **manitol** y **sorbitol** son frecuentemente empleados como reguladores osmóticos para modificar el potencial de agua de un medio de cultivo. En esas circunstancias, suficiente sacarosa debe también estar presente para suplir el requerimiento de energía del tejido, adicionando ya sea manitol o sorbitol al medio, lo cual puede hacer no disponible el boro (8).

El **manitol** ocasionalmente debería ser metabolizado, pero el **sorbitol** es más propenso a descomponerse (8).

C. Contribución de los azúcares

Las soluciones de **sorbitol** y **manitol** de molaridades equivalentes son aproximadamente comparables. De concentraciones arriba a 3% p/p, la osmolaridad es cerrada a molaridad. El potencial osmótico (en MPa) de soluciones de sacarosa a 25 grados centígrados puede ser estimado aproximadamente multiplicando el porcentaje de peso/volumen por la concentración -0.075 : de los monosacáridos de fructosa, glucosa, **manitol** y **sorbitol** (el cual tiene un peso molecular aproximadamente 0.52 veces que el de sacarosa), multiplicado por -0.14 (8).

4.1.1.20 POTENCIAL DE AGUA

El movimiento requiere energía. El agua, como todas las demás sustancias, no se mueve en contra de un gradiente de energía; debe moverse a favor de él, cediendo energía a medida que se

mueve. Mientras que la energía pueda perderse como resultado del movimiento del agua, éste continuará (1).

La energía libre se define como la energía disponible (sin cambio de temperatura) para realizar trabajo (1, 2).

El potencial químico de una sustancia bajo cualquier condición (esto es, pura, en solución, o como integrante de un sistema complejo) es la energía libre por mol de esa sustancia. El potencial químico, por lo tanto mide la energía con la cual reaccionará o se moverá una sustancia (2).

El potencial de agua es el potencial químico de ésta y es una medida de la energía disponible para reacción o movimiento. Bajo condiciones biológicas normales, el **potencial de agua** es usualmente bastante alto sin que limite las tasas de reacción que involucran agua (por ejemplo, en reacciones hidrolíticas). Sin embargo el movimiento del agua depende de su potencial, debido a que el movimiento neto de ésta es siempre de una región de potencial alto a otra de potencial bajo (2).

El **potencial del agua** pura o agua libre es, por definición, cero. La presencia de cualquier sustancia disuelta en agua disminuye su potencial, de manera que el **potencial de agua** de una solución es inferior a cero. Esta definición sólo es válida a presión atmosférica. La elevación o disminución de la presión alrededor de un sistema, automáticamente asciende o desciende el potencial de agua en exactamente la misma cantidad (2).

4.1.1.21 DIFUSION

Las moléculas de gas, o de un soluto en solución, están en movimiento continuo y tienden a asumir una distribución uniforme por todo el espacio disponible. En consecuencia las moléculas se mueven de una región de potencial alto a otra de potencial bajo; el proceso se llama difusión (2).

4.1.1.22 OSMOSIS

La difusión de agua a través de una membrana diferencialmente permeable (una membrana que es casi totalmente impermeable a las moléculas de soluto, pero permeable ante el solvente) de

una región de alto potencial (agua pura o solución débil) a otra de bajo potencial (solución concentrada), se llama ósmosis (1, 2).

4.1.1.23 POTENCIAL OSMOTICO

El potencial con que el agua pura difunde hacia una solución es el **potencial osmótico** de esa solución. Puesto que el agua difunde de un alto potencial (cero en el agua pura) a bajo potencial, el potencial osmótico de una solución es siempre negativo. El **potencial osmótico** es, entonces, una medida de la presión real que puede generarse en una célula mediante difusión del agua por ósmosis (2).

4.1.1.24 EFECTO OSMOTICO DE LOS INGREDIENTES DEL MEDIO

Además de tener efectos puramente nutritivos, soluciones de sales inorgánicas y azúcares, los cuales componen el medio de cultivo de tejidos, influyen en las células de las plantas a través de sus propiedades osmóticas (8).

El movimiento acuoso dentro y fuera de una pared celular es gobernado por las relativas concentraciones de disolver sustancias en las soluciones internas y externas, y por la presión ejercida por ésta restricción de la pared celular (8).

El potencial osmótico (presión) de soluciones es determinado por su concentración molar y por la temperatura. El agua potencial del tejido intermedio de una planta es equivalente a el potencial osmótico de los compuestos disueltos. Sólo el agua no ejerce presión potencial, como si tuviera agregado sustancias tal como agar, Gelrite o glicol polietileno que contribuye al potencial matriz (8).

Las propiedades osmóticas de las soluciones pueden ser dificultosas para describir sin confusión. La adición de solutos a un solvente (la cual hace la ósmosis o agua potencial más negativa, pero hace la osmolaridad de la solución incrementar a un alto valor positivo), como puede hacerlo reducir o hacer disminuir el potencial osmótico de soluciones (8).

4.1.1.25 REGULACION OSMOTICA

La regulación osmótica, en términos generales, se define como la modificación del potencial de agua de un medio de cultivo, en el cual una sustancia en el medio dificulta la absorción del agua por la planta, por ende los nutrientes disueltos en el agua son aprovechados lentamente, lo que provoca retardar el crecimiento (8, 29).

4.1.1.26 COMPONENTES QUE PROMUEVEN LA REGULACION OSMOTICA

Los carbohidratos generalmente son utilizados como fuente de energía y como reguladores osmóticos. Entre los cuales se puede mencionar por su importancia:

- Sacarosa (azúcar utilizado universalmente), en altas concentraciones (29).
- Los azúcares alcohol más utilizados son:
 - **Sorbitol** (8)
 - **Manitol** (8)

Por otra parte el ácido abscísico, también se utiliza en casos muy especiales, ya que inhibe el crecimiento de los cultivos (7).

4.1.1.27 DISMINUCION DEL POTENCIAL OSMOTICO CON OTRA SUSTANCIA OSMOTICA

Añadiendo sustancias solubles en lugar de algunos azúcares en un medio, puede ser mostrado que un azúcar no siempre actúa como una fuente de carbohidratos, sino también como osmorreguladores (8).

Técnica osmótica empleada para la deliberación modificada del potencial osmótico, puede ser prolongada careciendo de otros efectos biológicos. Frecuentemente los más seleccionados son los alcoholes azucarados **manitol y sorbitol**, los cuales usualmente no son metabolizados por las plantas. Sulfato de sodio y cloruro de sodio son utilizados en algunos experimentos (8).

4.1.1.28 SENESCENCIA Y LA INHIBICION DE LA DIVISION CELULAR

Cuando la concentración de sacarosa en un medio con alta cantidad de sal, tal como el medio MS, aumenta por arriba de 4-5 por ciento, puede causar una inhibición progresiva de aumento celular en muchos tipos de cultivos. Esto parece ser un efecto osmótico porque la adición de otras sustancias con actividad osmolítica (tal como manitol y glicol polyetileno) en el medio causa un efecto similar. Usualmente concentraciones altas de sacarosa no son tóxicas, no bajan en el corto plazo, y resume el aumento celular cuando el tejido fino u órganos son transferidos a un medio con contenido normal de azúcar (8).

4.1.1.29 EFECTO OSMOTICO SOBRE CRECIMIENTO Y MORFOGENESIS

Soluciones de diferentes concentraciones separadamente ejercen efectos sobre el crecimiento y la morfogénesis cerca del valor nutricional, y separadamente se encuentran variando el **potencial osmótico**. Estimando esos tres cuartos de la sacarosa necesaria para promover la velocidad óptima de formación directa de brotes adventicios de *Digitalis obscura* hypocotylos, donde requieren suplementar de energía, mientras que el exedente regula la morfogénesis osmolíticamente (8).

4.1.1.30 INFLUENCIA DEL POTENCIAL OSMOTICO EN PROCESOS CELULARES

¿Cómo influye el **potencial osmótico** en los procesos celulares? está, sin embargo, lejano de ser claro. Células mantenidas en un medio ambiente con bajo (altamente negativo) potencial osmótico, pierden agua y en consecuencia el agua potencial de la célula disminuye (8).

La actividad principal trayectoria, de la respiración de células es reducido en condiciones de estrés osmótico, en favor de un sistema alternativo de oxidación. Claramente esta situación podría no ocurrir en un medio cualquiera también concentrado, y el agua potencial necesita estar estabilizada dentro de una célula, antes de la expansión de la célula y división celular, lo cual puede ocurrir (8).

4.1.1.31 EL POTENCIAL OSMOTICO DEL MEDIO

A. La contribución de las sales nutritivas

Las sales inorgánicas disociadas entre iones, cuando ellos son disueltos en agua, de modo que el agua potencial de estas soluciones no depende de la molaridad de disociación de los componentes, solamente sobre la molaridad de estos iones. De las sales inorgánicas en medios nutritivos, los macronutrientes contribuyen la mayor parte de ellos al **potencial osmótico** (agua) final de estas grandes concentraciones (8).

4.2 MARCO REFERENCIAL

4.2.1 CARACTERISTICAS DE LOS MATERIALES EXPERIMENTALES

4.2.1.1 CLONES DE PAPA

A. ICTAFRIT

El clon Ictafrit tiene su origen en Perú, y es el resultado del cruce experimental entre *Solanum andígena* y *Solanum 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.
- Carnaza 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 de 90 a 120 días.
- Materia seca 18 a 24%
- Altitud: 2,300 a 3,200 msnm.
- Distancia de siembra: entre surcos 1 a 1.10 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 (17).
- Excelente para la fabricación de papas a la francesa (*).

B. LOMAN

Es un clon con mucha demanda en el mercado, pero debido a la degradación que ha ido sufriendo la semilla se ha vuelto muy susceptible al ataque del tizón tardío, por lo que requiere la utilización de pesticidas para poder convivir con ésta enfermedad, lo que reduce rendimientos e incrementa costos.

Características:

- Altura de la planta de 0.6 a 0.7 metros.
- Variedad de origen holandés (*).
- Susceptible al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary).
- Tubérculo alargado y ovoide.
- No florea.
- Materia seca de 17 a 20%.
- Ojos blancos superficiales.
- Color externo del tubérculo amarillo crema y color interno crema.

(*) DEL CID, A. 2000. Información de clones de papa. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. ICTA Área de productos alimenticios. Subárea de hortalizas. Comunicación personal.

- Tiene de dos a cinco tallos por planta.
- Distancia de siembra: entre surcos 0.75 metros y entre plantas 0.25 a 0.30 metros.
- Ciclo del cultivo 70 a 90 días.
- Rendimiento de 15 a 20 ton/ha.
- Altitud: 1,900 a 2,700 msnm (28).

C. TOLLOCAN

Características:

- Variedad de origen Mexicano (*).
- Altura de planta de 0.75 a 0.95 metros.
- El follaje es de color verde oscuro.
- Los tallos son rectos y fuertes.
- Las flores son de color blanco.
- Color de la piel amarillo crema y color interno amarillo huevo.
- Los tubérculos son redondos y planos.
- El período de almacenamiento de la semilla puede durar hasta 180 días (6 meses).
- Se puede cosechar de 100 a 110 días después de la siembra.
- Tolerante a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary).
- Tiene un rendimiento promedio de 22 ton/ha (13, 14).

D. ICTA CHIQUIRICHAPA

Características:

- Variedad de tallos rectos con una altura entre 0.7 a 0.8 metros.
- Las flores son de color lila.

(*) DEL CID, A. 2000. Información de clones de papa. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. ICTA Área de productos alimenticios. Subárea de hortalizas. Comunicación personal.

- Los tubérculos son alargados y de color crema.
- Su ciclo es de 90 a 100 días.
- El período de almacenamiento para semilla puede durar hasta 150 días.
- Es susceptible al tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (13, 14).

E. ATLANTIC

Características:

- Ciclo del cultivo de 80 a 90 días.
- Posee alto contenido de sólidos.
- Ideal para la producción de papalinas.
- Susceptible a pudriciones causadas por golpes.
- Susceptible a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (*).

F. AMIGO

Características:

- Clon de ciclo largo 110 días.
- Se utiliza en Europa y Panamá para la elaboración de papa frita a la francesa.
- Susceptible a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (*).
- Alto rendimiento.
- Maduración tardía.
- Alto contenido de materia seca
- Buena calidad culinaria, se deshace en la cocción (*).

(*) DEL CID, A. 2000. Información de clones de papa. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. ICTA
Área de productos alimenticios. Subárea de hortalizas. Comunicación personal.

G. ATZIMBA

Características:

- Variedad de origen Mexicano.
- Tubérculo redondo.
- Yemas poco profundas.
- Medianamente tolerante a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary).
- Buena para la fabricación de papalinas.
- Tolerante al ataque del nemátodo *Meloydogine* (*).

H. FLORESTA

Características:

- Variedad de origen peruano.
- Piel de color blanco cremoso.
- Carnasa de color blanco.
- Tubérculo de forma oblongo alargado, algunos con forma de riñón.
- Madurez a los 110 días.
- Resistente a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (*).

I. LEMHI-RUSSET

Características:

- Es una variedad de origen norteamericano.
- Buena calidad culinaria.
- Susceptible a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (*).

(*) DEL CID, A. 2000. Información de clones de papa. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. ICTA Área de productos alimenticios. Subárea de hortalizas. Comunicación personal.

J. XALAPAN

Características:

- Variedad de origen peruano.
- Ciclo del cultivo de 120 días.
- Tubérculos de forma oblongo alargado.
- Recién cosechado posee la característica de tener las yemas de color lila por lo cual en ciertos lugares se le conoce como punto rojo.
- Variedad con un alto rendimiento.
- Muy buena calidad culinaria.
- Medianamente tolerante a tizón tardío (*Phytophthora infestans* De Bary) (*).

5.2.1.2. CARACTERISTICAS DEL SORBITOL Y MANITOL

A. Sorbitol: el sorbitol no es metabolizado por las plantas, y frecuentemente es empleado como regulador osmótico (31).

- El peso molecular del sorbitol es 182.2
- La fórmula del sorbitol es $C_6H_{14}O_6$
- Nombre genérico: (D-Glucitol) (31).

B. Manitol: el manitol no es metabolizado por las plantas, y frecuentemente es empleado como regulador osmótico (31).

- El peso molecular del manitol es 182.2
- La fórmula del manitol es $C_6H_{14}O_6$
- Nombre genérico *mannite* (31).

(*) DEL CID, A. 2000. Información de clones de papa. Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. ICTA Área de productos alimenticios. Subárea de hortalizas. Comunicación personal.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL:

- 5.1.1 Evaluar el efecto de dos reguladores osmóticos sorbitol y manitol, en la conservación adecuada *in vitro* de clones de papa.

5.2 ESPECIFICOS:

- 5.2.1 Encontrar un regulador osmótico adecuado para la conservación *in vitro* de clones de papa.
- 5.2.2 Encontrar una dosis adecuada de regulador para la conservación *in vitro* de clones de papa.
- 5.2.3 Determinar si existe interacción entre un regulador osmótico y una dosis específica, que permita la conservación *in vitro* adecuada de clones de papa.

6. HIPÓTESIS

6.1 Existe un regulador osmótico adecuado que permite la conservación *in vitro* de clones de papa.

6.2 Existe una dosis adecuada de regulador que permite la conservación *in vitro* de clones de papa.

6.3 Existe una combinación de regulador osmótico y una dosis específica que permite la conservación adecuada *in vitro* de clones de papa.

7. METODOLOGIA

7.1 LOCALIZACION DEL AREA EXPERIMENTAL

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

7.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

En la presente investigación se utilizaron los 10 clones de papa más utilizados comercialmente en Guatemala, o con potencial para ello, provenientes de la colección de 45 clones que de momento se encuentran en el laboratorio del ICTA, considerados como colección activa. Siendo estos:

- Ictafrit
- Loman
- Tollocan
- ICTA Chiquirichapa
- Atlantic
- Amigo
- Atzimba
- Floresta
- Lemhi-Russet
- Xalapán

7.3 EQUIPO E INSUMOS

- Jabón neutral.
- Cloro comercial al 5.2 y 3%, sin diluir.
- Agua destilada estéril.
- Tubos de cultivo (25 x 150 mm).
- Medio de conservación.

- Cajas petri de aluminio.
- Pinzas.
- Hoja de bisturí con mango.
- Potenciómetro.
- Autoclave.
- Balanza analítica.
- Magnetos.
- Agitador magnético.
- Dispensador manual de medios.
- Mechero.
- Cámara de flujo laminar.
- Horno de esterilización seco.
- Beackers.
- Papel estéril
- Pipetas
- Probetas

7.4 DOSIS DE SORBITOL Y MANITOL

Para fines de la investigación se utilizó como medio basal el de Ken Okabe (PAPA II o P2), que es el que normalmente se utiliza para propagación en el laboratorio del ICTA, con las siguientes dosis de sorbitol y manitol:

- Sorbitol: 30 g/l
- 40 g/l
- 50 g/l
- Manitol: 30 g/l
- 40 g/l
- 50 g/l

7.5 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

7.5.1 MANEJO DEL EXPERIMENTO

7.5.1.1 MEDIO DE CULTIVO

El medio nutritivo artificial que se utilizó, fue el desarrollado por el Ingeniero Ken Okabe el cual está compuesto por los siguientes nutrientes: los macronutrientes de Ken Okabe, el medio de Gamborg (1967) y el medio de Murashige y Skoog (1962), tal como se detalla en el inciso que se refiere a la preparación del medio base de cultivo PAPA II o P2 modificado por Ken Okabe, la concentración a utilizar es 10x.

7.5.1.2 PREPARACION DE SOLUCIONES MADRE

La preparación del medio basal se realizó de acuerdo al consumo y las facilidades disponibles en el laboratorio de Biotecnología. El procedimiento que se utilizó para la preparación de ésta solución fue la siguiente:

A. Se colocaron aproximadamente 300 ml de agua destilada en un beacker de 1 litro.

B. Se pesaron con mucha precisión los siguientes reactivos:

a) Sales 1/2 NMS I para 1 litro (10x) (26).

Reactivo	Cantidad
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,850 mg
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	2,200 mg
- KNO_3	9,500 mg
- NH_4NO_3	4,125 mg
- KH_2PO_4	850 mg

b) Sales B5 I para 1 litro (10x) (26)

Reactivo	Cantidad
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	670 mg
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,500 mg
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	750 mg
- KNO_3	1,500 mg
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	750 mg

c) Solución B5 (vitaminas) para 100 ml (10x) (26).

Reactivo	Cantidad
- Myo-inositol	100 mg
- Acido nicotínico	1 mg
- Piridoxina-HCl	1 mg
- Tiamina-HCl	10 mg

d) MS B5 Micro para 1 litro (10x) (26).

Reactivo	Cantidad
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25 mg
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25 mg
- KI	8.30 mg
- $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5 mg

e) Sales MS II para 1 litro (10x) (26).

Reactivo	Cantidad
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278 mg
- Na_2EDTA	373 mg
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	223 mg
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	86 mg
- H_3BO_3	62 mg

C. Se prepararon las siguientes soluciones Stock:

Reactivo	Cantidad
- Acido fólico (1,000 ppm)	1,000 mg/l de agua
- L-arginina (4,000 ppm)	4,000 mg/l de agua
- Pantotenato de calcio (2,000 ppm)	2,000 mg/l de agua
- Putrescina (10,000 ppm)	10,000 mg/l de agua

D. Se disolvieron por separado estos reactivos en un beacker con agua destilada.

E. Los reactivos se mantuvieron en constante agitación.

F. Se aforó cada solución a 1 litro.

G. Las soluciones elaboradas se mantuvieron en refrigeración hasta su utilización.

7.5.1.3 PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO P2 DE KEN OKABE

Se prepararon 6 litros del medio P2 de Ken Okabe, posteriormente se distribuyeron en los tubos de cultivo.

A. En un beacker de 1,000 ml se colocaron aproximadamente 300 ml de agua destilada.

B. Se midieron con pipeta y probeta las siguientes soluciones:

Solución (Concentración 10x)	Volúmen de solución Stock a agregar por litro de medio de cultivo
1/2 NMS I	100 ml
B5 I	100 ml
Sales MS II	100 ml
MS Micro	100 ml

Vitaminas B5	10 ml
Acido fólico (1,000 ppm)	1 ml
L-arginina (4,000 ppm)	1 ml
Pantotenato de calcio (2,000 ppm)	1 ml
Putrescina (10,000 ppm)	1 ml
pH	5.8

7.5.1.4 PREPARACION DE MEDIOS DE CONSERVACION

Una vez elaborado el medio basal se procedió a la preparación de los medios de conservación agregando sorbitol en las siguientes dosis: 30, 40 y 50 g/l; así mismo se le agregó 20 g de sacarosa por litro y 8 g de agar por litro. Para la elaboración de los otros tratamientos se agregó manitol al medio basal en las siguientes dosis: 30, 40 y 50 g/l, así mismo se le agregó 30 g de sacarosa por litro y 8 g de agar por litro. La dosis de 40 g/l de manitol y sorbitol es propuesta por el Centro Internacional de la Papa (CIP), al igual que la sacarosa y el agar.

En cada tubo de cultivo para conservación se colocaron 15 ml del medio, posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 grados centígrados, durante 15 minutos a una presión de 103.4 kP (15 libras por pulgada cuadrada) (6).

7.5.1.5 SELECCION DEL MATERIAL EXPERIMENTAL

Los 10 clones de papa que se utilizaron son plantas cultivadas *in vitro*, que se conservan en el laboratorio de Biotecnología del ICTA y que forman parte de la colección de 45 clones existentes en el laboratorio. Los diez clones de papa fueron seleccionados por su importancia en cuanto a ser los que más se cultivan en Guatemala, o con potencial para ello y por considerarse colección activa.

El explante que se utilizó fue un microesqueje conteniendo un nudo y una hoja, proveniente de una etapa fenológica joven.

A. Aleatorización

Todos los tratamientos se aleatorizaron dentro de cada bloque, haciendo un sorteo dentro del bloque.

B. Siembra

Se realizó una siembra escalonada, sembrando una repetición por día, lo que constituye un bloque (60 unidades experimentales) durante 10 días consecutivos dando un total de 600 tubos de cultivo sembrados.

A los cuatro meses después de la siembra se realizó la propagación para cada tratamiento, sembrando 10 plantas por tratamiento y un mes después se tomaron las lecturas para determinar el porcentaje de regeneración.

7.5.1.6 CONDICIONES AMBIENTALES DE INCUBACION

Los materiales que se sembraron, en el medio para propagación, se trasladaron a un cuarto de crecimiento, con una temperatura de $20^{\circ} \text{C} \pm 2$, una intensidad lumínica de 3,000 lux dada por tres lámparas fluorescentes de luz blanca marca Sylvania, daylight de 40 W y un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. Las lámparas estuvieron a 22 centímetros de distancia de la parte superior de los tubos.

Los materiales que se sembraron en el medio para conservación estuvieron en las mismas condiciones de temperatura y fotoperíodo, pero la intensidad lumínica para este caso fue de 1,000 lux.

7.5.1.7 TRATAMIENTOS

Los tratamientos evaluados fueron seis por clon, para sumar 60 tratamientos por bloque y se hicieron 10 repeticiones por tratamiento, los cuales suman 60 unidades experimentales por clon, dando un total de 600 unidades experimentales tomando en cuenta que se trabajó con 10 clones de papa. La codificación de los tratamientos se detalla en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos por clon que fueron evaluados.

Tratamiento número	Clon	Regulador	Dosis g/l	Tratamiento número	Clon	Regulador	Dosis g/l
1-	IF	S	30	31-	AMI	S	30
2-	IF	S	40	32-	AMI	S	40
3-	IF	S	50	33-	AMI	S	50
4-	IF	M	30	34-	AMI	M	30
5-	IF	M	40	35-	AMI	M	40
6-	IF	M	50	36-	AMI	M	50
7-	LOM	S	30	37-	ATZ	S	30
8-	LOM	S	40	38-	ATZ	S	40
9-	LOM	S	50	39-	ATZ	S	50
10-	LOM	M	30	40-	ATZ	M	30
11-	LOM	M	40	41-	ATZ	M	40
12-	LOM	M	50	42-	ATZ	M	50
13-	TOL	S	30	43-	FLO	S	30
14-	TOL	S	40	44-	FLO	S	40
15-	TOL	S	50	45-	FLO	S	50
16-	TOL	M	30	46-	FLO	M	30
17-	TOL	M	40	47-	FLO	M	40
18-	TOL	M	50	48-	FLO	M	50
19-	IC	S	30	49-	405	S	30
20-	IC	S	40	50-	405	S	40
21-	IC	S	50	51-	405	S	50
22-	IC	M	30	52-	405	M	30
23-	IC	M	40	53-	405	M	40
24-	IC	M	50	54-	405	M	50
25-	377	S	30	55-	XAL	S	30
26-	377	S	40	56-	XAL	S	40
27-	377	S	50	57-	XAL	S	50
28-	377	M	30	58-	XAL	M	30
29-	377	M	40	59-	XAL	M	40
30-	377	M	50	60-	XAL	M	50

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirichapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol

7.5.1.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Debido a que existió un gradiente que son los días de siembra, se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), en arreglo combinatorio de los tratamientos, con 10 repeticiones por tratamiento.

7.5.1.9 MODELO ESTADISTICO

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

Y_{ijkl} = Variable de respuesta.

M = Efecto de la media general.

A_i = Efecto del i-ésimo clon.

B_j = Efecto del j-ésimo regulador osmótico.

C_k = Efecto de la k-ésima dosis de regulador osmótico.

AB_{ij} = Efecto de la interacción entre el i-ésimo clon y el j-ésimo regulador osmótico.

AC_{ik} = Efecto de la interacción entre el i-ésimo clon y la k-ésima dosis de regulador.

BC_{jk} = Efecto de la interacción entre el j-ésimo regulador osmótico y la k-ésima dosis.

ABC_{ijk} = Efecto de la ijk-ésima interacción de clon, regulador osmótico y dosis.

R_l = Efecto del l-ésimo bloque.

E_{ijkl} = Error experimental asociado a la ijkl-ésima observación.

7.5.1.10 FACTORES Y NIVELES

A. Clones (A)

a. Ictafrit

b. Loman

c. Tollocan

d. ICTA Chiquirichapa

e. Atlantic

f. Amigo

g. Atzimba

h. Floresta

i. Lemhi Russet

j. Xalapán

B. Reguladores osmóticos (B)

- a. Sorbitol
- b. Manitol

C. Dosis de los reguladores osmóticos (C)

- a. 30 g/l
- b. 40 g/l
- c. 50 g/l

7.5.1.11 UNIDAD EXPERIMENTAL

Como unidad experimental se utilizó un tubo de cultivo de 25 x 150 mm, el cual contenía un microesqueje consistente en un nudo y una hoja.

7.5.1.12 VARIABLES RESPUESTA**A. Altura de planta**

Para la toma de datos de ésta variable se procedió de la siguiente manera: para realizar la curva de crecimiento y observar el comportamiento de las plantas, se realizaron lecturas cada mes durante cuatro meses, que fue el tiempo que permaneció en conservación, estando la planta dentro del tubo se midió la altura en centímetros desde la yema del explante hasta la parte más alta de la planta.

B. Número de entrenudos

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

C. Porcentaje de regeneración

A los cuatro meses después de la siembra se sacaron las plantas de los tubos para realizar la propagación para cada uno de los tratamientos, para lo cual se hizo una replica exacta del diseño experimental anterior y un mes después de hecho esto, se tomó el porcentaje de regeneración de cada clon de papa, con la diferencia que para ello se utilizó el medio de propagación P2 de Ken Okabe, sin los reguladores osmóticos **manitol** y **sorbitol**.

7.5.13 ANALISIS DE LA INFORMACION

Para procesar la información de las variables de respuesta: altura de planta, número de entrenudos y porcentaje de regeneración, previo al análisis de varianza se realizaron las pruebas de normalidad y por no tener un comportamiento normal se realizó la transformación de los resultados por medio de la raíz cuadrada, tomando en cuenta la suposición que nos indica que todos los errores tienden a distribuirse normalmente, por lo tanto si no se cumple la normalidad tampoco se cumplirán las suposiciones siguientes: la distribución es simétrica, el coeficiente de curtosis es cero, la media es independiente de las varianzas y los estimadores de la varianza y de la media, reúnen toda la información obtenible a partir de las observaciones muestrales, se pierde eficiencia en el análisis debido a que cuando los errores no son normales, la media de los valores de un tratamiento no es la estimación más precisa de la media poblacional correspondiente para ese tratamiento.

A los resultados transformados se les realizó el análisis de varianza para cada variable de respuesta utilizando el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

En los casos en que se obtuvo diferencias significativas entre tratamientos por variable de respuesta, se efectuó un análisis utilizando para ello la prueba de medias de Duncan al 5%.

Las alturas medias en centímetros de las plantas de cada clon tomadas cada mes (desde el 1er. mes hasta el 4to. mes), sirvieron para realizar la curva de crecimiento y observar el comportamiento o la tendencia del crecimiento para todos los clones con sus seis tratamientos cada uno, pero únicamente se les hizo análisis de varianza a los datos del cuarto mes de conservación.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de las variables de respuesta se analizaron simultáneamente.

8.1 Altura de planta

El análisis de varianza para la variable de respuesta altura de planta en centímetros (cuadro 2), mostró diferencias altamente significativas para los factores: clon, regulador, dosis y significativa para la interacción regulador por dosis.

Cuadro 2. Análisis de varianza de la variable altura de planta.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Clon	9	32.4488	3.6054	14.82	0.0001 **
Regulador	1	26.7030	26.7030	109.73	0.0001 **
Dosis	2	47.2617	23.6308	97.11	0.0001 **
C*R	9	3.6812	0.4090	1.68	0.0905 NS
C*D	18	5.9846	0.3324	1.37	0.1423 NS
R*D	2	2.2299	1.1149	4.58	0.0106 *
C*R*D	18	5.6850	0.3158	1.30	0.1828 NS
Error	531	129.2155	0.2433		
Total	599	258.3240			

C. V. = 22.51

** diferencias altamente significativas (1%)  = Efectos a analizar

* diferencias significativas (5%)

NS No significativo (> 5%)

Pr > F Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

C = Clon R = Regulador D = Dosis

8.1.1 Altura de planta según el clon

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 3) se determinó que la mayor altura de planta se obtuvo con los clones Ictafrit e ICTA Chiquirichapa, los cuales estadísticamente son iguales, y la menor altura la presentaron los clones Tollocan, Atlantic y Xalapán.

Cuadro 3. Prueba de Duncan al 5%, según el factor clon, para la variable altura de planta.

CLON	Altura de planta (cm)	Duncan al 5%			
Ictafrit	6.0	A			
ICTA Chiquirichapa	5.5	A	B		
Amigo	4.7		B	C	
Loman	4.6			C	
Floresta	4.4			C	
Atzimba	4.2			C	
Lemhi Russet	3.9			C	
Xalapán	2.9				D
Atlantic	2.9				D
Tollocan	2.7				D

Los clones que presentaron las mejores características para conservación, por la altura de planta considerada como buena, sin descartar los otros clones evaluados, bajo las condiciones en que se realizó la investigación y por facilitarse la propagación, son: Ictafrit, ICTA Chiquirichapa y Amigo, cuyos resultados sirven como referencia y no es un dato consistente del cual se puedan sacar conclusiones según con los objetivos de la investigación, ya que no se pretende saber cual es el que mejor se puede conservar.

8.1.2 Altura de planta según interacción regulador por dosis

Con la utilización de la prueba de Duncan (cuadro 4) se determinó, que con la combinación del regulador sorbitol con la dosis de 30 g/l, la respuesta de los explantes de los clones a la altura de planta fue la mayor y la menor altura se obtuvo con el regulador manitol con una dosis de 50 g/l.

Cuadro 4. Prueba de Duncan al 5%, para la interacción regulador por dosis, para la variable altura de planta.

TRATAMIENTO (regulador, dosis)	Altura de planta (cm)	Duncan al 5%			
Sorbitol, 30 g/l	7.5	A			
Sorbitol, 40 g/l	5.1		B		
Manitol, 30 g/l	4.3		B	C	
Sorbitol, 50 g/l	3.2			C	
Manitol, 40 g/l	3.0			C	D
Manitol, 50 g/l	2.1				D

El comportamiento del crecimiento de la planta de los diez clones evaluados se puede apreciar en la curva de crecimiento, en las figuras 1 a 10 que a continuación se presentan en el orden como aparecen en el cuadro 3, en la que se observan los valores medios de altura de cada mes, con los 6 tratamientos por clon.

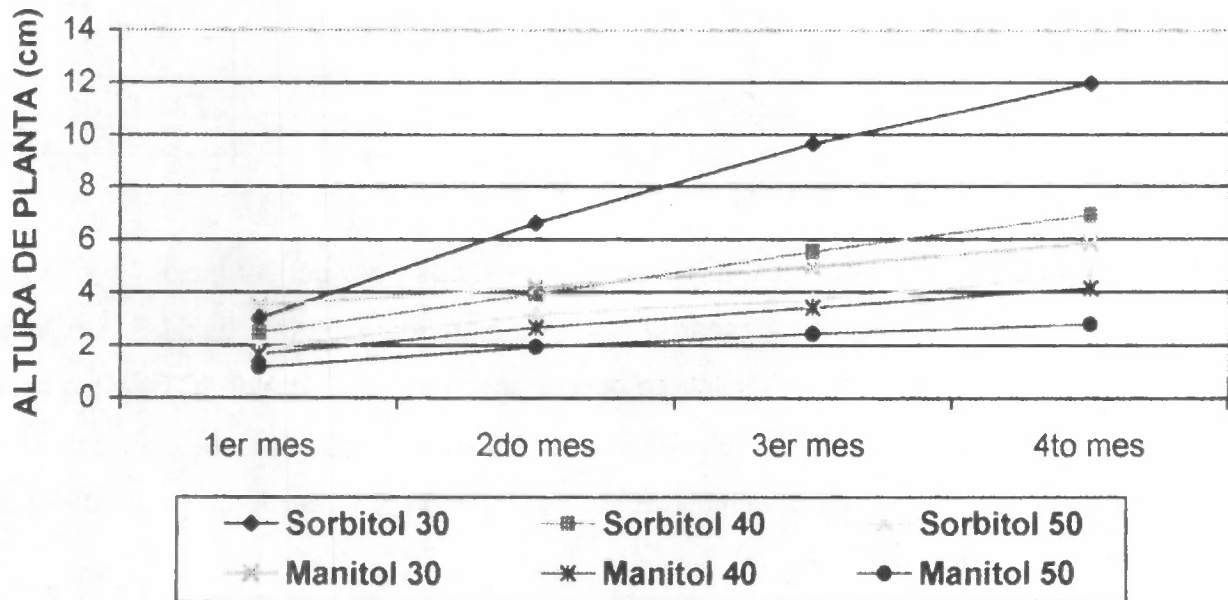


Figura 1. Curva de crecimiento para el clon Ictafrit.

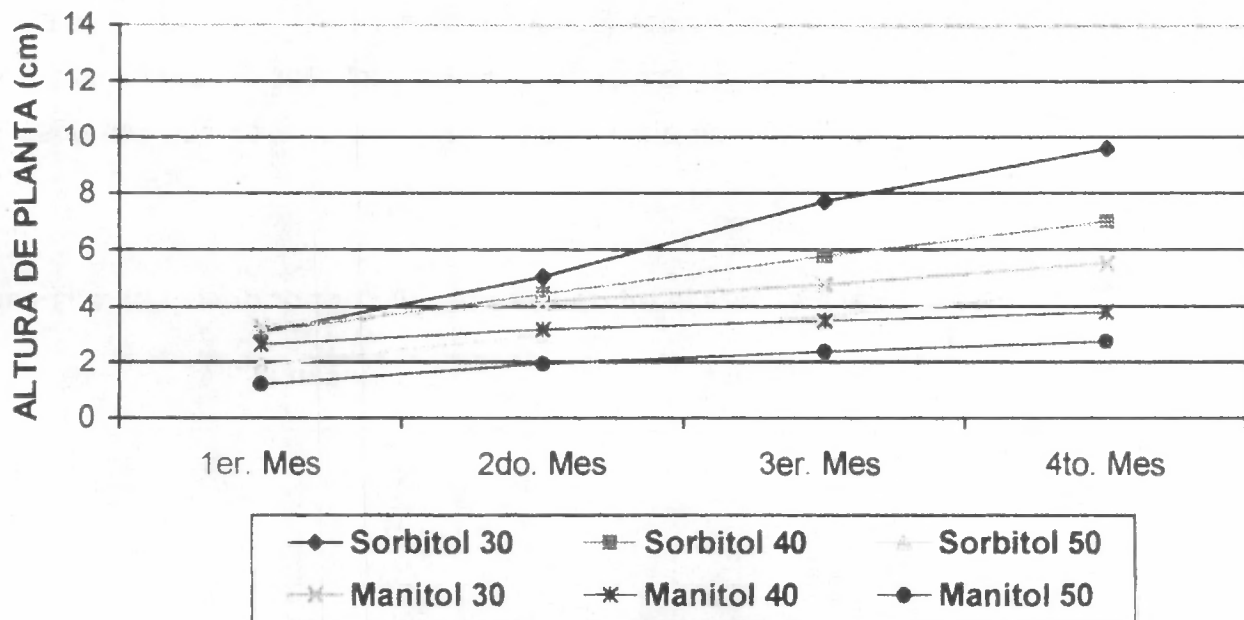


Figura 2. Curva de crecimiento para el clon ICTA Chiquirichapa.

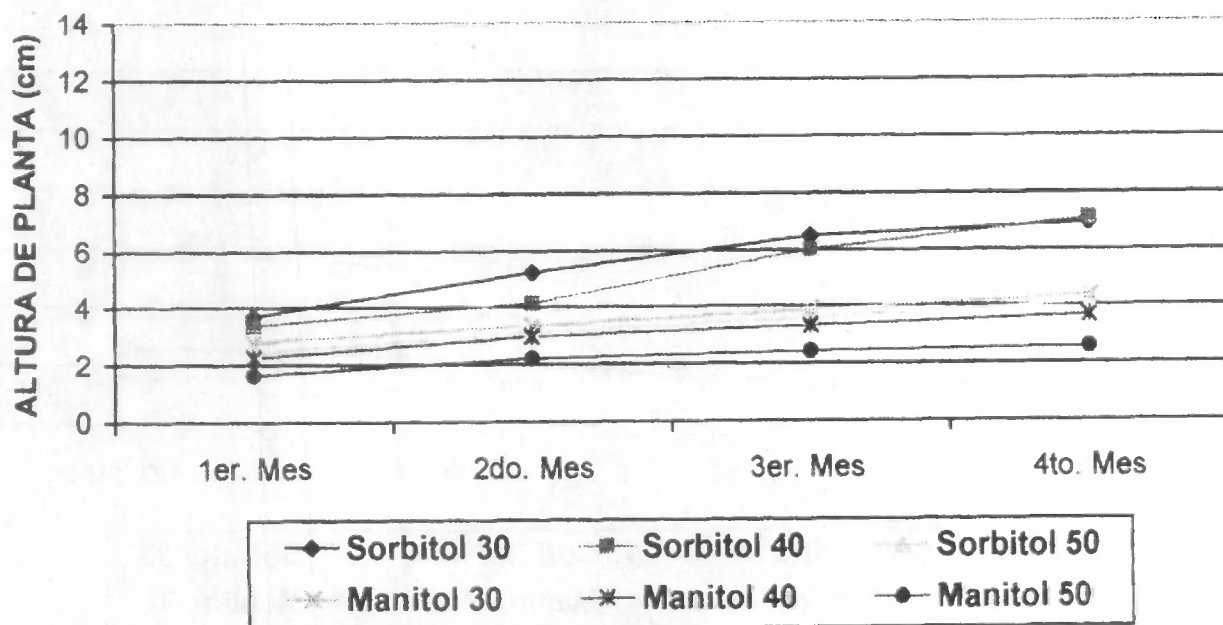


Figura 3. Curva de crecimiento para el clon Amigo.

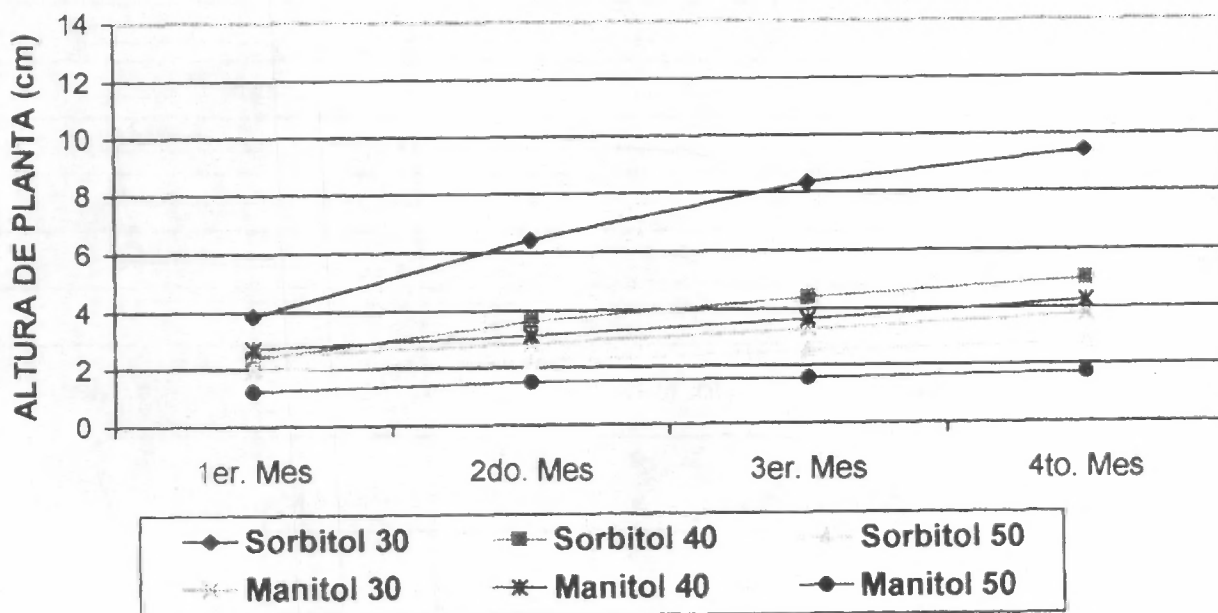


Figura 4. Curva de crecimiento para el clon Loman.

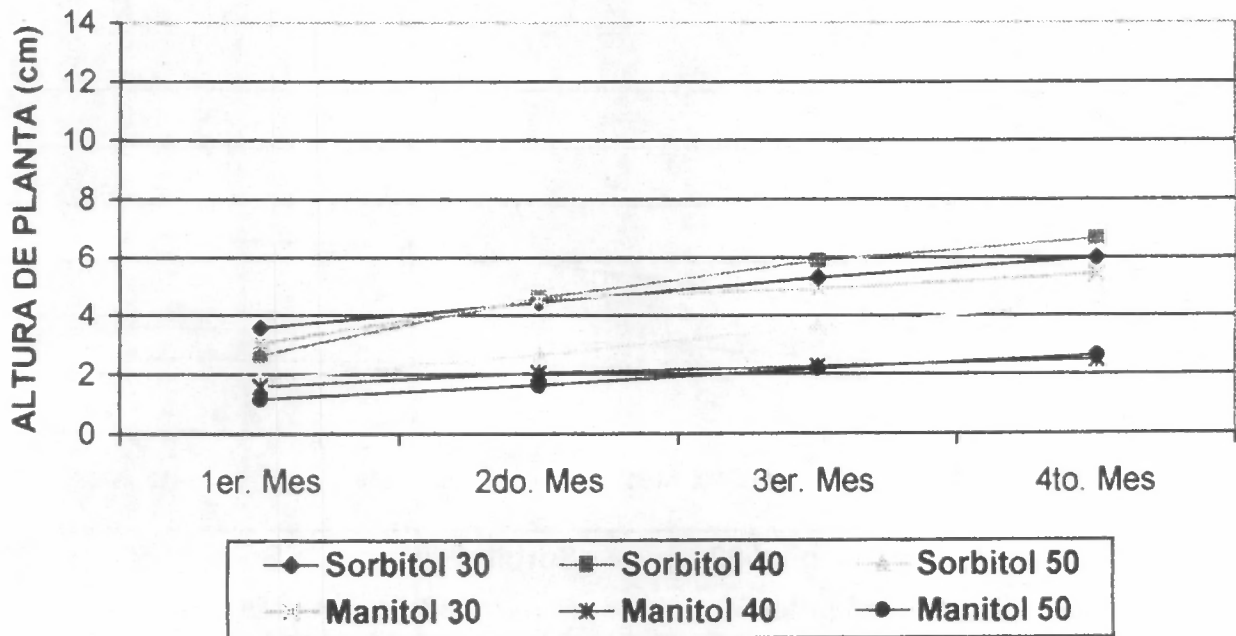


Figura 5. Curva de crecimiento para el clon Floresta.

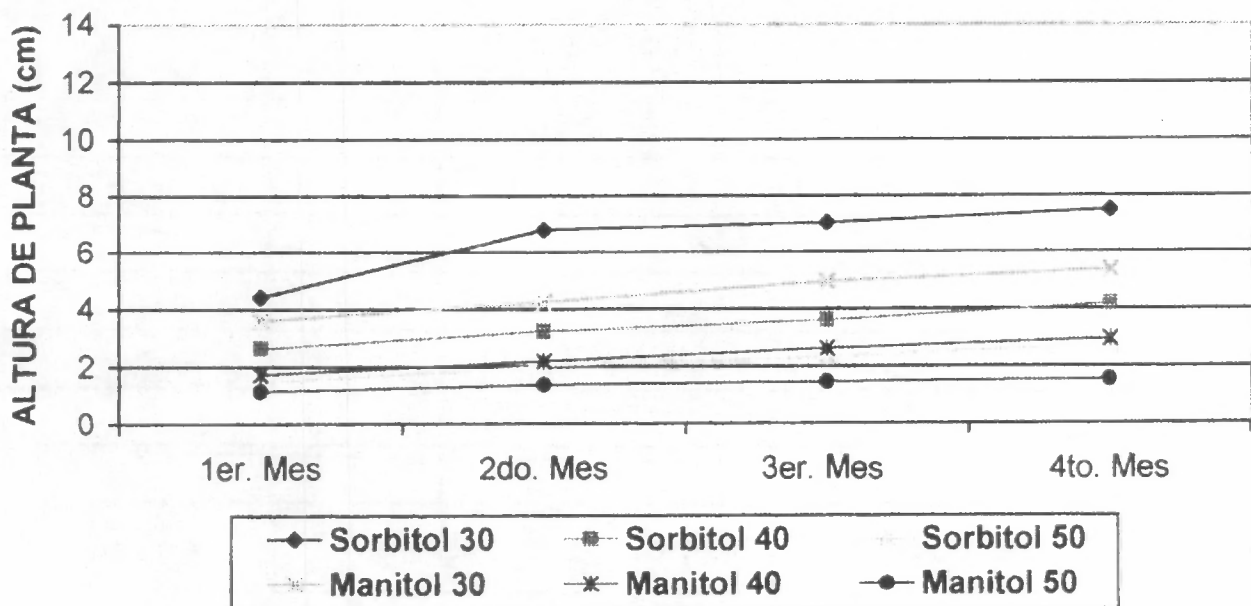


Figura 6. Curva de crecimiento para el clon Atzimba.

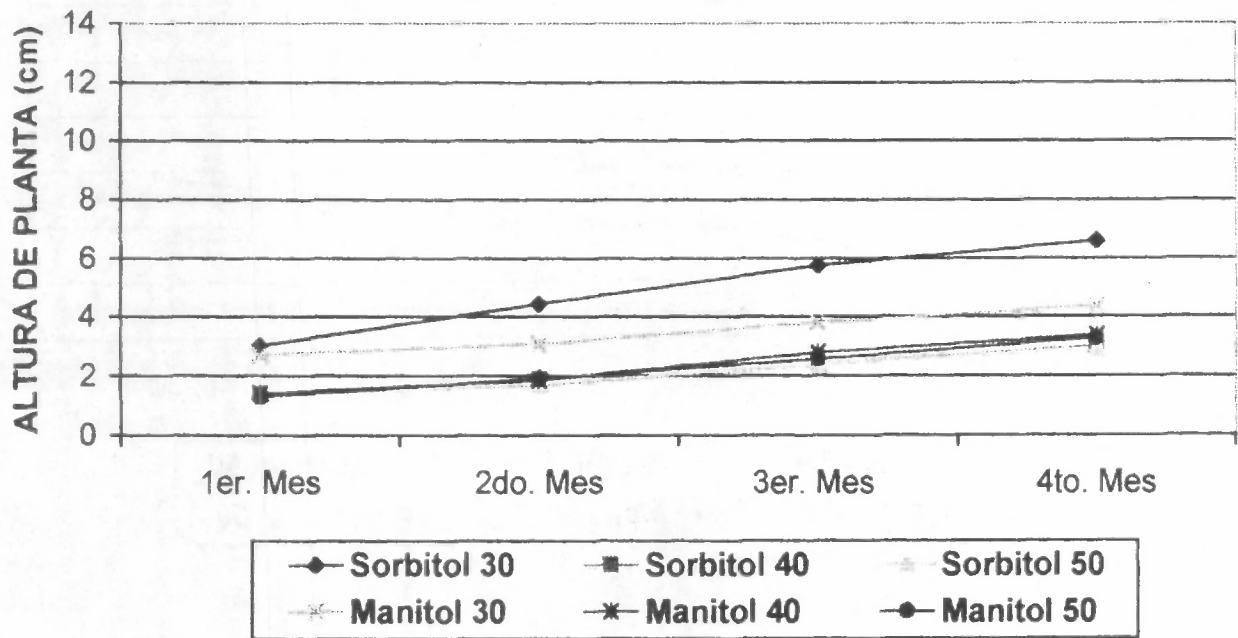


Figura 7. Curva de crecimiento para el clon Lemhi Russet.

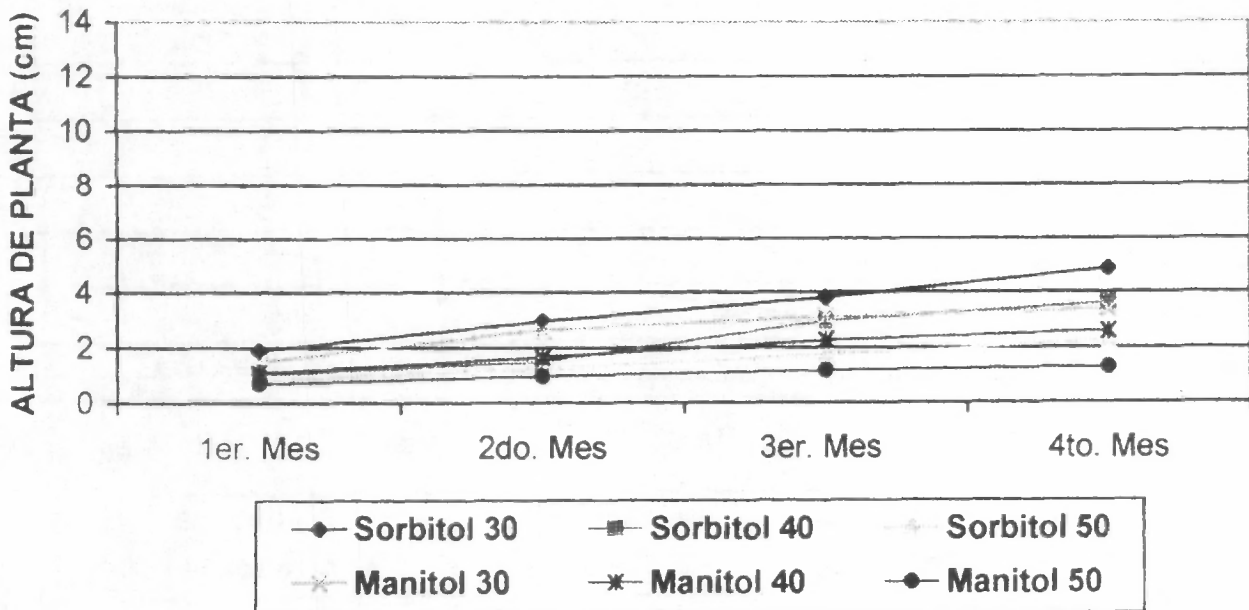


Figura 8. Curva de crecimiento para el clon Xalapán.

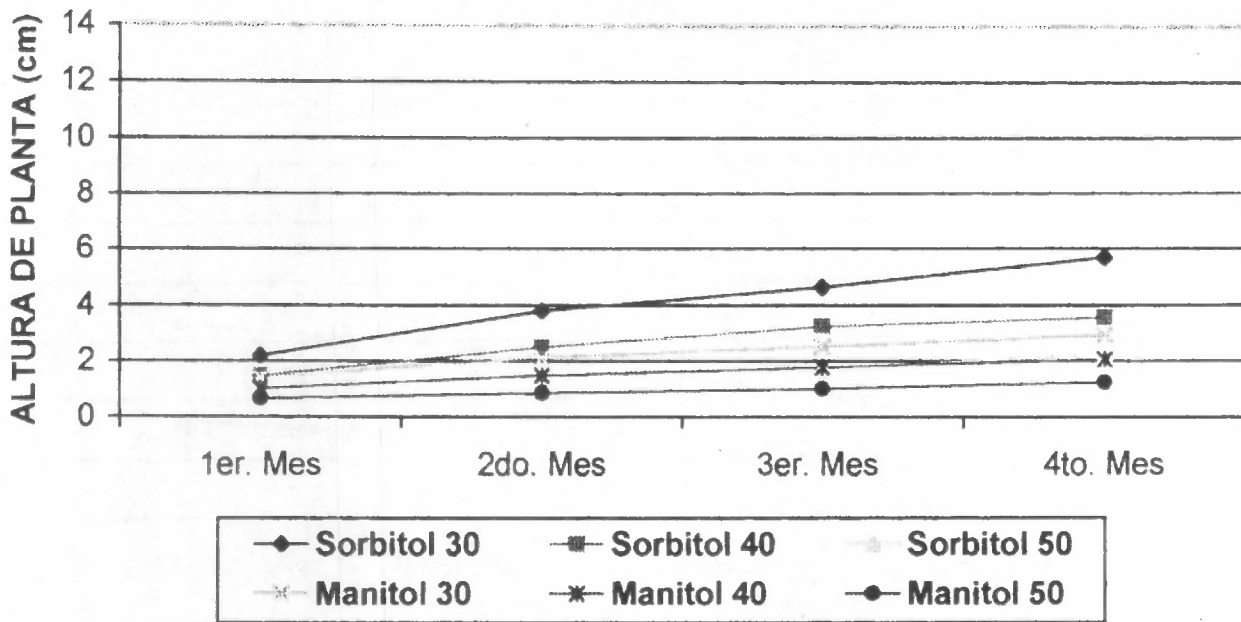


Figura 9. Curva de crecimiento para el clon Atlantic.

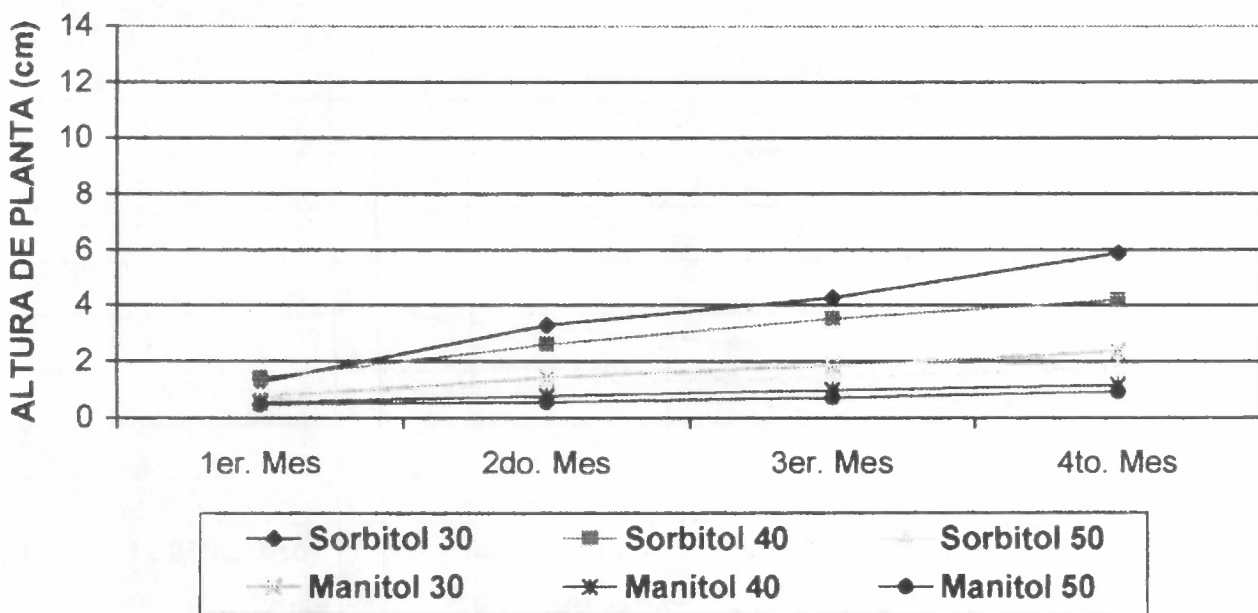


Figura 10. Curva de crecimiento para el clon Tollocan.

Los diez clones de papa evaluados con sus 6 tratamientos cada uno, tuvieron un crecimiento constante desde el primer mes hasta el cuarto mes, el cual no se estabilizó en ningún punto como se aprecia en las figuras anteriores, esto nos da una idea de cual es la tendencia del crecimiento de las plantas de papa en un medio de conservación, el cual es relativo al tiempo.

8.2 Número de entrenudos

El análisis de varianza para la variable de respuesta número de entrenudos (cuadro 5), mostró diferencias altamente significativas para los factores: clon, regulador, dosis y significativas para la interacción clon por dosis.

Cuadro 5. Análisis de varianza de la variable número de entrenudos.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Clon	9	197.4759	21.9414	16.29	0.0001 **
Regulador	1	28.4639	28.4639	21.13	0.0001 **
Dosis	2	121.9799	60.9899	45.27	0.0001 **
C*R	9	11.7928	1.3103	0.97	0.4617 NS
C*D	18	42.3102	2.3505	1.74	0.0290 *
R*D	2	0.6687	0.3343	0.25	0.7803 NS
C*R*D	18	32.4250	1.8013	1.34	0.1587 NS
Error	531	715.3960	1.3472		
Total	599	1203.7742			

C. V. = 29.17

** diferencias altamente significativas (1%) = Efectos a analizar

* diferencias significativas (5%)

NS No significativo (> 5%)

Pr > F Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

C = Clon R = Regulador D = Dosis

8.2.1 Número de entrenudos según regulador osmótico

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 6) se determinó que el mayor número de entrenudos, de acuerdo al factor regulador osmótico, se obtuvo con el empleo del regulador sorbitol y el menor número de entrenudos se obtuvo con el uso del regulador manitol.

Cuadro 6. Prueba de Duncan al 5%, según regulador osmótico, para la variable número de entrenudos.

REGULADOR	Número de entrenudos	Duncan al 5%	
Sorbitol	18.6	A	
Manitol	15.1		B

El comportamiento de la variable número de entrenudos de los clones, se vio afectado por el factor regulador, de lo cual se determinó que el regulador sorbitol puede ser utilizado para conservar clones en un lapso de tiempo, no mayor de cuatro meses, en las condiciones en que se realizó la investigación.

8.2.2 Número de entrenudos, para la interacción clon por dosis

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 7) se determinó que el mayor número de entrenudos para cada clon, se obtuvo con las siguientes combinaciones: clon Loman con una dosis de 30 g/l, clon Atzimba con una dosis de 30 g/l, clon Tollocan con una dosis de regulador osmótico de 30 g, clon Amigo con una dosis de 30 g/l ó 40 g/l, clon ICTA Chiquirichapa con una dosis de 30 ó 40 g/l, clon Ictafrit con una dosis 30 ó 40 g/l, clon Floresta con una dosis de 30 ó 40 g/l, clon Lemhi Russet con una dosis 30, 40 ó 50 g/l, clon Xalapán con una dosis de 30, 40 ó 50 g/l y clon Atlantic con una dosis de 30, 40 y 50 g/l; dichas combinaciones clon por dosis de regulador en las que se presentan hasta tres dosis, estadísticamente son iguales, por lo tanto la dosis de 30 g/l se menciona para todos los clones y será la que se utilizará debido a que entre más alta la dosis, más se elevan los costos.

La producción del número de entrenudos por clon, se ve afectada por la dosis de regulador osmótico que se utilice en los medios de cultivo, esto se dedujo de los resultados anteriormente mencionados en los que se observa que clones y con que dosis produce mayor número de entrenudos.

Cuadro 7. Prueba de Duncan al 5%, para la interacción clon por dosis de regulador, para la variable número de entrenudos.

TRATAMIENTOS (clon, dosis g/l)	Número de entrenudos	Duncan al 5%											
Loman, 30	33.4	A											
Amigo, 30	28.4	A	B										
Atzimba, 30	26.9	A	B										
Amigo, 40	25.3	A	B	C									
ICTA Chiquirichapa, 30	24.3	A	B	C	D								
Loman, 40	22.7		B	C	D	E							
Ictafrit, 30	22.6		B	C	D	E							
Lemhi Russet, 30	22.5		B	C	D	E							
ICTA Chiquirichapa, 40	21.4		B	C	D	E	F						
Amigo, 50	20.0		B	C	D	E	F	G					
Floresta, 30	19.9		B	C	D	E	F	G					
Ictafrit, 40	17.8			C	D	E	F	G	H				
Atzimba, 40	16.4				D	E	F	G	H				
Floresta, 40	16.4				D	E	F	G	H				
Lemhi Russet, 50	16.0					E	F	G	H	I			
Lemhi Russet, 40	15.3					E	F	G	H	I	J		
Floresta, 50	14.8					E	F	G	H	I	J		
Tollocan, 30	14.1						F	G	H	I	J		
ICTA Chiquirichapa, 50	13.5							G	H	I	J	K	
Ictafrit, 50	13.4							G	H	I	J	K	
Atlantic, 30	12.7							G	H	I	J	K	
Loman, 50	12.4								H	I	J	K	
Xalapán, 30	11.5								H	I	J	K	L
Atlantic, 40	11.2								H	I	J	K	L
Atlantic, 50	11.1								H	I	J	K	L
Atzimba, 50	9.5									I	J	K	L
Xalapán, 40	9.1										J	K	L
Tollocan, 40	7.7											K	L
Tollocan, 50	7.6											K	L
Xalapán, 50	6.4												L

8.3 Porcentaje de regeneración

Para poder realizar el análisis de varianza para la variable de respuesta porcentaje de regeneración, se decidió, tomar como término de error el cuadrado medio de la triple interacción.

El análisis de varianza para la variable de respuesta porcentaje de regeneración (cuadro 8), mostró diferencias altamente significativas, para los factores clon y dosis.

Cuadro 8. Análisis de varianza de la variable porcentaje de regeneración.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > F
Clon	9	41.2619	4.5846	7.61	0.0001 **
Regulador	1	1.8083	1.8083	3.00	0.1003 NS
Dosis	2	10.5382	5.2691	8.74	0.0022 **
C*R	9	5.4960	0.6106	1.01	0.4652 NS
C*D	18	22.0508	1.2250	2.03	0.0709 NS
R*D	2	0.5436	0.2718	0.45	0.6439 NS
Error	18	10.8477	0.6026		
Total	59	92.5467			

C. V. = 8.93

** diferencias altamente significativas (1%)  = Efectos a analizar

* diferencias significativas (5%)

NS No significativo (> 5%)

Pr > F Probabilidad de encontrar un valor mayor que la F calculada.

C = Clon R = Regulador D = Dosis

8.3.1 Porcentaje de regeneración, según el factor clon

Utilizando la prueba de Duncan (cuadro 9) se determinó, que el mayor porcentaje de regeneración, lo presentaron los siguientes clones: ICTA Chiquirichapa, Floresta, Ictafrit, Atlantic, Amigo, Atzimba y Lemhi Russet; los cuales estadísticamente son iguales. Así también el menor porcentaje de regeneración lo presentaron los clones: Loman, Tollocan y Xalapán, estadísticamente iguales.

Cuadro 9. Prueba de Duncan al 5%, según el factor clon, para la variable porcentaje de regeneración.

CLON	Porcentaje de regeneración	Duncan al 5%	
ICTA Chiquirichapa	91.7	A	
Floresta	88.3	A	
Ictafrit	86.7	A	
Atlantic	86.7	A	
Amigo	81.7	A	
Atzimba	80.0	A	
Lemhi Russet	75.0	A	
Loman	60.0		B
Tollocan	56.7		B
Xalapán	53.3		B

8.3.2 Porcentaje de regeneración, según el factor dosis

Con la utilización de la prueba de Duncan (cuadro 10) se determinó, que el mayor porcentaje de regeneración, se obtuvo con las siguientes dosis de regulador osmótico: 30 g/l y el testigo 40 g/l; dichas dosis son estadísticamente iguales. Por otra parte la dosis que presentó el menor porcentaje de regeneración es la de 50 g/l.

Cuadro 10. Prueba de Duncan al 5%, según el factor dosis, para la variable porcentaje de regeneración.

DOSIS (g/l)	Porcentaje de regeneración	Duncan al 5%	
40	81.5	A	
30	80.0	A	
50	66.5		B

El comportamiento, en cuanto al porcentaje de regeneración se refiere, es igual estadísticamente para la dosis de 30 g/l y para la dosis utilizada como testigo 40 g/l recomendado por Espinosa *et al.* (6) del Centro Internacional de la papa CIP. Para los intereses de la investigación se utilizará la dosis de 30 g/l, debido a que con ello se obtuvo mayor altura de planta y mayor número de entrenudos, también se reducen los costos invertidos en medios de conservación.

Los datos obtenidos son válidos únicamente para el tiempo que duro la investigación, no se puede predecir cuanto tiempo más se pueden conservar los mismos esquejes sin que afecte el porcentaje de regeneración.

No se encontraron diferencias significativas para la triple interacción de los factores clon x regulador x dosis en ninguna de las variables de respuesta a excepción del porcentaje de regeneración ya que no fue posible establecerse por falta de repeticiones, lo cual nos indica que todos los clones tienen la misma tendencia de respuesta con los reguladores y dosis estudiadas, esto se confirma observando el comportamiento de altura de planta de los diez clones evaluados, en las gráficas de curva de crecimiento (figura 1 a la figura 10); ya que según Espinosa *et al.* (6), el crecimiento de las plantas no depende solo de la composición de los medios, sino también de la temperatura de incubación y de la variedad de la planta.

El regulador osmótico manitol, retardó más el crecimiento por la alta presión osmótica ejercida, en términos de altura de planta que el regulador osmótico sorbitol, ambos utilizados frecuentemente como reguladores osmóticos para modificar el potencial de agua del medio de cultivo (8), pero al mismo tiempo se observó que redujo la longitud de los entrenudos significativamente, esto coincide con lo dicho por Espinosa (6), que al agregar una sustancia osmótica al medio se limita el crecimiento y se acorta la distancia de los entrenudos, lo cual dificultó la propagación posterior; mientras que con sorbitol, la mayor longitud de entrenudos obtenida facilitó el posterior subcultivo que sirvió para determinar el porcentaje de regeneración, además de haber producido mayor número de ellos.

Aún utilizando la dosis más baja de sorbitol de las evaluadas, que fue el tratamiento con mayor altura de plantas, tomando en cuenta que no se requiere la supresión total del crecimiento, sino que conservar en forma adecuada los clones de papa, estas no alcanzaron la parte superior del tubo de cultivo, pero no es posible conservar los clones de papa por un período mayor de tiempo que cuatro meses, debido a que se verificó mediante observaciones, que el medio de cultivo se deshidrata, haciendo énfasis de que esto sucede bajo las condiciones del laboratorio en el que se realizó el experimento, lo cual contrasta con lo referido por Espinosa *et al.* (6), donde dice que utilizando la dosis de 40 g/l de sorbitol ó manitol el germoplasma se conserva hasta un año, haciendo únicamente un subcultivo a los seis meses.

El manitol parece adecuado para conservar el germoplasma de la colección pasiva (no se utilizan con frecuencia) por un período de tiempo más prolongado en bajas concentraciones, ya que se observó que el medio de cultivo no se deshidrató en su totalidad a los cuatro meses, pudo ser porque el manitol ejerce una mayor presión osmótica que el sorbitol, a pesar de ser los dos reguladores osmóticos, de molaridades equivalentes. En la misma medida con el incremento o la disminución de la concentración de los reguladores, por regulación osmótica se dificulta la absorción del agua por la planta, por ende los nutrientes disueltos en ella, lo cual es directamente proporcional (8, 29).

El sorbitol parece más adecuado para utilizarse en la conservación de la colección activa, debido a que la mayor altura de planta resultante es aún adecuada para un período de cuatro meses, además de mostrar mayor número de entrenudos.

La dosis de 50 g/l, tanto de manitol como de sorbitol, reduce demasiado la regeneración de plantas, por lo que no es conveniente utilizarla. La dosis de 30 g/l de regulador osmótico se considera como mejor tratamiento, pues retarda lo suficiente el crecimiento de las plantas, produce un mayor número de entrenudos y tiene un buen porcentaje de regeneración, a pesar de generar el mismo porcentaje de regeneración que la dosis utilizada como testigo 40 g/l recomendada por el CIP (6), porque reduce los costos de inversión.

Los costos estimados para mantener la colección en condiciones normales utilizando un medio de cultivo es de Q 8,467.20 anuales, pero si consideramos la utilización de los reguladores osmóticos sorbitol y manitol a una dosis de 30 gramos por litro, el costo para mantener la colección es de Q 3,718.80, lo que reduce considerablemente la inversión en Q 4,748.40 anuales. Tomando en cuenta lo que dijeron Roca et al. (29) que el crecimiento rápido de los cultivos en condiciones normales, exige más mano de obra, tiempo y espacio, además aumenta la posibilidad de pérdidas debidas a accidentes o a contaminación microbiana durante la repetición continua de los subcultivos, fue entonces necesario la realización de la investigación.

9. CONCLUSIONES

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

- 9.1 La respuesta en altura de planta, número de entrenudos y porcentaje de regeneración se mostró diferente para los factores evaluados.
- 9.2 El regulador osmótico sorbitol con una dosis de 30 g/l, fue el que mejor funcionó para la conservación *in vitro* adecuada de los clones de papa evaluados, en términos de altura de planta y número de entrenudos, tomando en cuenta que el porcentaje de regeneración con las dosis de 30 y 40 g/l es igual para ambos reguladores.
- 9.3 El regulador osmótico manitol retardó más el crecimiento de las plantas que el sorbitol, sin embargo produjo menos entrenudos.
- 9.4 La dosis de 30 g/l de regulador osmótico produjo mayor altura de planta y mayor número de entrenudos que la dosis de 40 g/l, y esta a su vez, en mayor cantidad que la dosis de 50 g/l. La regeneración fue mayor utilizando la dosis de 30 y 40 g/l.

10. RECOMENDACIONES

De acuerdo con la experiencia obtenida en la investigación, se recomienda lo siguiente:

- 10.1 Se recomienda utilizar el regulador osmótico sorbitol a una dosis de 30 g/l, para la conservación adecuada *in vitro* de los clones evaluados que constituyen la colección activa de germoplasma.
- 10.2 Se recomienda evaluar el regulador osmótico manitol con una dosis de 30 g/l, para conservar los clones de papa del resto de la colección por períodos de tiempo más prolongados y determinar como afecta el porcentaje de regeneración.
- 10.3 Se recomienda evaluar otros productos reportados para la conservación *in vitro* de germoplasma de papa.

11. BIBLIOGRAFIA

1. BARCELO, J. et al. 1980. Fisiología vegetal. Madrid, España, Ediciones Pirámide. 750 p.
2. BIDWELL, R. 1990. Fisiología vegetal. Trad. por Guadalupe Gerónimo Cano y Cano; Manuel Rojas Garcidueñas. México, D.F. Ed. A.G.T. 784 p.
3. COMPENDIUM OF potato diseases. 1981. Minesota, American Phytopathological Society. 125 p.
4. DOODS, J.; LORIN, W. 1985. Experiments in plant tissue culture. 2 ed. New York, EE.UU., Cambridge University Press. 232 p.
5. DUCREUX, E. et al. 1986. La patata. La Recherche (Francia) no. 57:409-423.
6. 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.
7. FUNDAMENTOS TEORICO-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. 1990. ed. C. Rossel y V. Villalobos. Roma, FAO. Serie Producción y Protección Vegetal no. 105. s.p.
8. GEORGE, E.F. 1993. Plant propagation by tissue culture. 2 ed. EE.UU., Ed. Exegetics Limited. 1,574 p.
9. GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. 2000. Estadísticas de producción, exportación, importación y precios medios de los principales productos agrícolas. Guatemala. s.p.
10. GUATEMALA. INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS. 1977. El cultivo de la papa en Guatemala. Guatemala, ICTA. Folleto Técnico no. 6. p.23.
11. —. 1988. Recomendaciones técnicas agropecuarias para el altiplano occidental. Guatemala. p.irr.
12. —. 1988. Recomendaciones técnicas agropecuarias para los departamentos de Jutiapa y Jalapa. Guatemala. p.irr.
13. —. 1990. Recomendaciones técnicas agropecuarias para los departamentos de Jutiapa, Jalapa y Santa Rosa. Guatemala. 37 p.
14. —. 1990. Recomendaciones técnicas agropecuarias para los departamentos de Huehuetenango y Quiché. Guatemala. 37 p.
15. HANDBOOK OF plant cell culture. 1984. ed. D.A. Evans, et al. New York, EE.UU., McMillan. v.3, 620 p.

16. HENKES, R.; DUNN, N. 1981. Aumenta el consumo de papa con nuevas variedades y nuevos métodos de producción, el cultivo de la papa puede extenderse a un número mayor de regiones. *El Surco (Mex)* no. 3:1-2.
17. HERNANDEZ, A. 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.
18. HORTON, D. 1987. Potatoes, production, marketing and programs for developing countries. London, Westriew Press. 243 p.
19. ——. 1988. Las papas en los países en desarrollo. *Revista Latinoamericana de la Papa (Perú)* 1(1):9-15.
20. KRIKORIAN, A. 1991. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. *In: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones.* Colombia, CIAT. p. 41-69.
21. ——. 1991. Propagación clonal *in vitro*. *In: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones.* Colombia, CIAT. p. 95-125.
22. LIZARRAGA, R. *et al.* 1987. Cultivos de tejidos para la eliminación de patógenos. *Guía de Investigación CIP (Perú)* no. 3:1-23.
23. MARTIN, C. 1985. La multiplicación de las plantas en probeta. *Mundo Científico (España)* no. 44:160-169.
24. MONTALDO, A. 1984. Cultivo y mejoramiento de la papa. San José, Costa Rica, Ed. Texto. 676 p.
25. MROGINSKI, L.; ROCA, W. 1991. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. *In: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones.* Colombia, CIAT. p. 19-40.
26. OKABE, K. Informe final 1995-1997, región I, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala. Guatemala, ICTA, 88 p.

Sin publicar.
27. PEREA, M.; NAVARRO, A. 1988. Técnicas *in vitro*. Costa Rica, Universidad Nacional Costa Rica. 105 p.
28. PLANT CELL and tissue culture. 1994. Boston, EE.UU., Kluwer Academic. p. 362-372.
29. ROCA, W. *et al.* 1991. Métodos de conservación *in vitro* de germoplasma. *In: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones.* Colombia, CIAT. p. 698-713.

30. SHIDE-RENTSCHLER, L.; SHMIEDICHE, P. 1984. El cultivo de tejidos, su pasado, presente y futuro. CIP. Circular (Perú) 12(1):1-12.
31. SIGMA (EE. UU). 2000. Catalogue biochemicals and reagents for life science research. EE.UU. p. 635, 909.
32. USUI, K. et al. 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Guatemala, ICTA-JOCV. 166 p.
33. VIDALLIE, H. 1986. Cultivo *in vitro*. Trad. María Eugenia de Aragón Espejo. México D.F., Ed. Científica. p.43-51.
34. VILLALOBOS, V.; THORPE, T. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. Colombia, CIAT. p.127-141.
35. WHITE, P. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. (EE.UU.) 9:585-600.

Vo. Bo.
Rehualle



APENDICE

Cuadro 11A. Datos del experimento de la repetición 1 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	11.2	47	AMI S 30	8.7	35
IF S 40	6.0	24	AMI S 40	8.5	39
IF S 50	4.7	28	AMI S 50	3.0	42
IF M 30	5.6	15	AMI M 30	1.8	5
IF M 40	4.9	18	AMI M 40	4.6	31
IF M 50	3.7	29	AMI M 50	1.5	7
LOM S 30	7.5	43	ATZ S 30	7.4	41
LOM S 40	0.8	2	ATZ S 40	8.4	39
LOM S 50	1.0	6	ATZ S 50	8.4	17
LOM M 30	5.0	30	ATZ M 30	9.5	44
LOM M 40	4.5	37	ATZ M 40	6.0	28
LOM M 50	1.7	8	ATZ M 50	2.2	16
TOL S 30	3.9	36	FLO S 30	11.5	31
TOL S 40	1.1	6	FLO S 40	14.0	27
TOL S 50	1.0	5	FLO S 50	2.0	10
TOL M 30	1.3	6	FLO M 30	6.3	32
TOL M 40	1.3	6	FLO M 40	1.0	3
TOL M 50	1.0	4	FLO M 50	3.5	14
IC S 30	8.0	36	405 S 30	4.0	12
IC S 40	9.5	24	405 S 40	2.0	19
IC S 50	9.5	18	405 S 50	3.2	20
IC M 30	7.5	20	405 M 30	1.8	8
IC M 40	2.1	11	405 M 40	1.8	12
IC M 50	2.5	8	405 M 50	2.2	10
377 S 30	3.8	32	XAL S 30	3.5	7
377 S 40	2.4	12	XAL S 40	1.8	14
377 S 50	2.4	14	XAL S 50	1.5	7
377 M 30	2.0	8	XAL M 30	3.2	16
377 M 40	1.9	13	XAL M 40	3.5	8
377 M 50	1.1	6	XAL M 50	2.0	6

NOTA:

IF = Ictafrit
 LOM = Loman
 TOL = Tollocan
 IC = ICTA Chiquirichapa
 377 = Atlantic

AMI = Amigo
 ATZ = Atzimba
 FLO = Floresta
 405 = Lemhi Russet
 XAL = Xalapán

S = Sorbitol
 M = Manitol

Cuadro 12A. Datos del experimento de la repetición 2 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	4.7	38	AMI S 30	8.1	41
IF S 40	4.1	19	AMI S 40	9.5	53
IF S 50	3.3	6	AMI S 50	6.5	60
IF M 30	5.0	21	AMI M 30	3.8	28
IF M 40	1.1	5	AMI M 40	2.0	12
IF M 50	2.9	24	AMI M 50	2.0	9
LOM S 30	10.7	56	ATZ S 30	6.5	21
LOM S 40	4.3	32	ATZ S 40	5.0	28
LOM S 50	3.7	20	ATZ S 50	1.8	9
LOM M 30	5.5	61	ATZ M 30	3.5	7
LOM M 40	4.2	26	ATZ M 40	2.0	12
LOM M 50	2.2	14	ATZ M 50	0.9	2
TOL S 30	3.2	24	FLO S 30	0.6	1
TOL S 40	0.7	3	FLO S 40	1.5	6
TOL S 50	3.0	13	FLO S 50	10.7	12
TOL M 30	1.1	3	FLO M 30	7.5	16
TOL M 40	1.3	11	FLO M 40	0.7	2
TOL M 50	1.0	8	FLO M 50	5.0	14
IC S 30	6.0	22	405 S 30	9.1	43
IC S 40	5.7	25	405 S 40	8.8	21
IC S 50	6.5	33	405 S 50	2.5	10
IC M 30	6.2	30	405 M 30	5.4	13
IC M 40	4.1	23	405 M 40	3.0	12
IC M 50	3.9	17	405 M 50	4.4	30
377 S 30	9.5	31	XAL S 30	5.1	7
377 S 40	7.0	25	XAL S 40	4.0	8
377 S 50	5.8	36	XAL S 50	2.5	14
377 M 30	3.1	21	XAL M 30	3.8	12
377 M 40	3.3	27	XAL M 40	1.6	8
377 M 50	1.2	12	XAL M 50	0.4	2

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirichapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapan

S = Sorbitol

M = Manitol

Cuadro 13A. Datos del experimento de la repetición 3 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	14.5	27	AMI S 30	3.7	31
IF S 40	11.2	23	AMI S 40	10.8	26
IF S 50	2.5	7	AMI S 50	6.1	34
IF M 30	7.5	30	AMI M 30	3.9	32
IF M 40	2.6	9	AMI M 40	5.5	63
IF M 50	0.6	2	AMI M 50	2.6	19
LOM S 30	9.7	58	ATZ S 30	9.8	25
LOM S 40	13.0	50	ATZ S 40	1.5	6
LOM S 50	1.1	4	ATZ S 50	3.0	12
LOM M 30	1.5	11	ATZ M 30	6.3	27
LOM M 40	5.5	28	ATZ M 40	4.8	15
LOM M 50	1.5	3	ATZ M 50	1.2	7
TOL S 30	2.2	23	FLO S 30	6.0	30
TOL S 40	4.0	27	FLO S 40	7.7	28
TOL S 50	1.4	24	FLO S 50	1.9	27
TOL M 30	2.7	8	FLO M 30	4.8	31
TOL M 40	0.3	2	FLO M 40	6.0	12
TOL M 50	0.8	12	FLO M 50	2.0	22
IC S 30	8.1	36	405 S 30	5.2	28
IC S 40	12.3	20	405 S 40	1.8	22
IC S 50	7.7	13	405 S 50	3.0	16
IC M 30	7.1	38	405 M 30	4.2	28
IC M 40	5.0	26	405 M 40	2.3	8
IC M 50	5.2	32	405 M 50	2.5	11
377 S 30	12.0	22	XAL S 30	1.8	16
377 S 40	1.1	7	XAL S 40	2.3	8
377 S 50	2.0	20	XAL S 50	3.2	9
377 M 30	9.7	13	XAL M 30	1.0	3
377 M 40	1.0	4	XAL M 40	3.5	8
377 M 50	1.5	19	XAL M 50	1.9	17

NOTA:

IF = Ictafrit
 LOM = Loman
 TOL = Tollocan
 IC = ICTA Chiquirichapa
 377 = Atlantic

AMI = Amigo
 ATZ = Atzimba
 FLO = Floresta
 405 = Lemhi Russet
 XAL = Xalapán

S = Sorbitol
 M = Manitol

Cuadro 14A. Datos del experimento de la repetición 4 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	13.5	14	AMI S 30	7.3	39
IF S 40	3.0	19	AMI S 40	5.5	23
IF S 50	7.8	13	AMI S 50	3.9	30
IF M 30	6.8	18	AMI M 30	6.0	43
IF M 40	3.3	10	AMI M 40	3.3	19
IF M 50	3.5	13	AMI M 50	2.7	22
LOM S 30	6.5	63	ATZ S 30	10.1	27
LOM S 40	1.8	5	ATZ S 40	2.8	21
LOM S 50	2.0	5	ATZ S 50	1.1	7
LOM M 30	1.7	6	ATZ M 30	0.8	2
LOM M 40	3.2	10	ATZ M 40	1.1	3
LOM M 50	1.0	4	ATZ M 50	1.9	6
TOL S 30	10.8	19	FLO S 30	1.9	7
TOL S 40	1.2	8	FLO S 40	0.8	3
TOL S 50	2.2	16	FLO S 50	1.0	3
TOL M 30	2.0	7	FLO M 30	6.0	40
TOL M 40	1.2	4	FLO M 40	1.0	6
TOL M 50	1.1	6	FLO M 50	3.0	13
IC S 30	3.4	18	405 S 30	2.0	9
IC S 40	2.9	12	405 S 40	2.5	21
IC S 50	4.1	28	405 S 50	2.0	25
IC M 30	7.0	27	405 M 30	5.5	36
IC M 40	2.0	16	405 M 40	3.0	11
IC M 50	2.4	17	405 M 50	4.4	30
377 S 30	0.8	5	XAL S 30	6.0	10
377 S 40	4.3	8	XAL S 40	7.0	15
377 S 50	0.8	4	XAL S 50	0.6	2
377 M 30	2.0	13	XAL M 30	1.2	8
377 M 40	1.7	10	XAL M 40	0.7	5
377 M 50	0.8	9	XAL M 50	0.8	3

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirichapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol

Cuadro 15A. Datos del experimento de la repetición 5 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	13.9	21	AMI S 30	2.3	22
IF S 40	12.5	26	AMI S 40	1.5	4
IF S 50	7.5	11	AMI S 50	6.0	25
IF M 30	3.8	11	AMI M 30	4.8	20
IF M 40	3.8	18	AMI M 40	3.3	15
IF M 50	0.5	3	AMI M 50	3.0	18
LOM S 30	7.0	49	ATZ S 30	8.2	20
LOM S 40	8.8	46	ATZ S 40	5.5	30
LOM S 50	5.9	41	ATZ S 50	3.0	12
LOM M 30	4.9	27	ATZ M 30	4.5	34
LOM M 40	4.6	25	ATZ M 40	2.0	10
LOM M 50	2.5	19	ATZ M 50	1.5	5
TOL S 30	2.6	20	FLO S 30	6.0	15
TOL S 40	0.5	2	FLO S 40	13.5	13
TOL S 50	1.0	12	FLO S 50	10.7	12
TOL M 30	2.8	34	FLO M 30	7.5	16
TOL M 40	0.7	3	FLO M 40	6.5	16
TOL M 50	0.8	3	FLO M 50	2.3	24
IC S 30	14.1	43	405 S 30	11.5	23
IC S 40	7.8	44	405 S 40	4.2	28
IC S 50	2.7	9	405 S 50	6.0	10
IC M 30	3.3	16	405 M 30	3.8	29
IC M 40	5.2	34	405 M 40	4.0	20
IC M 50	3.3	17	405 M 50	4.4	30
377 S 30	3.5	10	XAL S 30	6.8	21
377 S 40	5.9	18	XAL S 40	3.3	14
377 S 50	4.7	33	XAL S 50	3.0	17
377 M 30	3.0	19	XAL M 30	3.8	8
377 M 40	1.5	7	XAL M 40	1.0	5
377 M 50	1.7	6	XAL M 50	2.3	12

NOTA:

IF = Ictafrit
 LOM = Loman
 TOL = Tollocan
 IC = ICTA Chiquirichapa
 377 = Atlantic

AMI = Amigo
 ATZ = Atzimba
 FLO = Floresta
 405 = Lemhi Russet
 XAL = Xalapán

S = Sorbitol
 M = Manitol

Cuadro 16A. Datos del experimento de la repetición 6 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	8.7	26	AMI S 30	13.5	19
IF S 40	4.3	14	AMI S 40	5.8	33
IF S 50	2.3	6	AMI S 50	1.4	4
IF M 30	4.7	13	AMI M 30	5.0	35
IF M 40	4.5	12	AMI M 40	4.5	36
IF M 50	3.0	13	AMI M 50	2.0	9
LOM S 30	14.0	20	ATZ S 30	9.5	32
LOM S 40	6.7	24	ATZ S 40	3.8	12
LOM S 50	1.9	10	ATZ S 50	2.8	12
LOM M 30	1.5	7	ATZ M 30	4.6	25
LOM M 40	4.0	30	ATZ M 40	2.5	22
LOM M 50	1.1	4	ATZ M 50	1.6	5
TOL S 30	1.0	2	FLO S 30	13.8	11
TOL S 40	3.3	12	FLO S 40	4.6	48
TOL S 50	1.0	3	FLO S 50	3.0	24
TOL M 30	2.6	9	FLO M 30	6.1	21
TOL M 40	0.5	2	FLO M 40	2.0	18
TOL M 50	0.6	4	FLO M 50	1.5	3
IC S 30	13.2	16	405 S 30	12.5	13
IC S 40	7.0	16	405 S 40	2.6	27
IC S 50	3.5	5	405 S 50	6.4	17
IC M 30	3.6	10	405 M 30	6.7	28
IC M 40	2.5	8	405 M 40	1.5	9
IC M 50	1.8	8	405 M 50	1.3	5
377 S 30	13.9	14	XAL S 30	2.1	5
377 S 40	5.5	22	XAL S 40	2.2	5
377 S 50	2.9	17	XAL S 50	0.5	2
377 M 30	4.3	11	XAL M 30	1.7	7
377 M 40	5.0	8	XAL M 40	0.5	1
377 M 50	2.3	13	XAL M 50	0.5	2

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirchapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol

Cuadro 17A. Datos del experimento de la repetición 7 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	11.6	19	AMI S 30	7.0	33
IF S 40	7.8	20	AMI S 40	5.8	17
IF S 50	5.7	17	AMI S 50	1.5	7
IF M 30	6.5	22	AMI M 30	4.3	31
IF M 40	5.5	28	AMI M 40	4.3	25
IF M 50	5.2	22	AMI M 50	1.5	6
LOM S 30	8.1	21	ATZ S 30	8.2	31
LOM S 40	3.8	3	ATZ S 40	8.0	40
LOM S 50	2.0	3	ATZ S 50	2.5	9
LOM M 30	5.8	23	ATZ M 30	5.9	27
LOM M 40	6.0	46	ATZ M 40	2.9	7
LOM M 50	4.0	54	ATZ M 50	1.7	4
TOL S 30	9.0	21	FLO S 30	1.5	21
TOL S 40	7.5	11	FLO S 40	11.9	16
TOL S 50	3.6	11	FLO S 50	3.2	23
TOL M 30	5.2	13	FLO M 30	6.3	20
TOL M 40	2.6	10	FLO M 40	2.8	18
TOL M 50	1.4	6	FLO M 50	1.7	7
IC S 30	8.5	26	405 S 30	7.8	17
IC S 40	7.7	29	405 S 40	1.2	6
IC S 50	5.8	16	405 S 50	1.7	5
IC M 30	6.3	27	405 M 30	7.3	35
IC M 40	4.8	23	405 M 40	6.5	23
IC M 50	1.4	7	405 M 50	3.4	12
377 S 30	3.9	15	XAL S 30	6.1	15
377 S 40	0.9	4	XAL S 40	6.8	13
377 S 50	0.5	2	XAL S 50	5.1	8
377 M 30	0.5	3	XAL M 30	3.2	16
377 M 40	2.5	9	XAL M 40	6.2	13
377 M 50	0.9	3	XAL M 50	1.4	6

NOTA:

IF = Ictafrit
 LOM = Loman
 TOL = Tollocan
 IC = ICTA Chiquirichapa
 377 = Atlantic

AMI = Amigo
 ATZ = Atzimba
 FLO = Floresta
 405 = Lemhi Russet
 XAL = Xalapán

S = Sorbitol
 M = Manitol

Cuadro 18A. Datos del experimento de la repetición 8 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	14.0	28	AMI S 30	6.6	28
IF S 40	8.4	18	AMI S 40	8.5	25
IF S 50	6.2	14	AMI S 50	5.0	35
IF M 30	7.3	30	AMI M 30	5.3	31
IF M 40	6.0	15	AMI M 40	1.0	5
IF M 50	0.5	1	AMI M 50	1.5	11
LOM S 30	14.2	29	ATZ S 30	7.8	27
LOM S 40	1.0	3	ATZ S 40	0.7	2
LOM S 50	2.5	18	ATZ S 50	2.4	13
LOM M 30	0.9	5	ATZ M 30	7.8	36
LOM M 40	4.3	13	ATZ M 40	4.8	16
LOM M 50	1.0	3	ATZ M 50	2.0	9
TOL S 30	4.4	17	FLO S 30	0.7	2
TOL S 40	8.9	14	FLO S 40	2.0	17
TOL S 50	1.4	5	FLO S 50	6.7	13
TOL M 30	1.2	2	FLO M 30	6.1	35
TOL M 40	1.0	4	FLO M 40	0.5	1
TOL M 50	1.0	6	FLO M 50	1.1	10
IC S 30	9.6	37	405 S 30	9.0	55
IC S 40	7.8	29	405 S 40	1.5	6
IC S 50	2.0	5	405 S 50	1.7	5
IC M 30	2.5	4	405 M 30	3.5	33
IC M 40	1.4	5	405 M 40	4.5	13
IC M 50	1.4	5	405 M 50	4.4	30
377 S 30	1.4	8	XAL S 30	6.1	15
377 S 40	1.8	8	XAL S 40	2.2	12
377 S 50	1.2	6	XAL S 50	1.2	3
377 M 30	0.5	1	XAL M 30	8.9	11
377 M 40	1.0	4	XAL M 40	3.4	10
377 M 50	1.2	2	XAL M 50	1.2	4

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquinchapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol

Cuadro 19A. Datos del experimento de la repetición 9 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	14.5	17	AMI S 30	5.0	19
IF S 40	7.1	27	AMI S 40	6.5	28
IF S 50	1.6	5	AMI S 50	1.1	4
IF M 30	4.3	18	AMI M 30	3.7	27
IF M 40	4.5	17	AMI M 40	3.6	19
IF M 50	2.2	11	AMI M 50	4.0	19
LOM S 30	7.3	32	ATZ S 30	7.1	25
LOM S 40	6.2	25	ATZ S 40	4.2	21
LOM S 50	6.2	26	ATZ S 50	2.6	9
LOM M 30	5.9	51	ATZ M 30	5.0	28
LOM M 40	5.2	44	ATZ M 40	1.8	7
LOM M 50	0.8	2	ATZ M 50	1.7	9
TOL S 30	14.1	16	FLO S 30	13.8	22
TOL S 40	13.0	14	FLO S 40	9.2	33
TOL S 50	1.6	6	FLO S 50	2.3	8
TOL M 30	2.5	7	FLO M 30	1.3	4
TOL M 40	1.3	4	FLO M 40	3.0	26
TOL M 50	1.0	3	FLO M 50	1.4	11
IC S 30	13.8	17	405 S 30	3.2	15
IC S 40	7.6	40	405 S 40	2.7	13
IC S 50	1.6	7	405 S 50	1.0	6
IC M 30	5.8	24	405 M 30	3.5	8
IC M 40	5.9	20	405 M 40	2.6	14
IC M 50	1.2	7	405 M 50	1.5	4
377 S 30	6.4	10	XAL S 30	5.0	7
377 S 40	5.2	27	XAL S 40	4.3	10
377 S 50	0.6	2	XAL S 50	1.7	2
377 M 30	2.0	8	XAL M 30	3.6	16
377 M 40	0.5	1	XAL M 40	3.4	10
377 M 50	0.3	1	XAL M 50	1.2	4

NOTA:

IF = Ictafrit
 LOM = Loman
 TOL = Tollocan
 IC = ICTA Chiquirichapa
 377 = Atlantic

AMI = Amigo
 ATZ = Atzimba
 FLO = Floresta
 405 = Lemhi Russet
 XAL = Xalapan

S = Sorbitol
 M = Manitol

Cuadro 20A. Datos del experimento de la repetición 10 de los diez clones de papa.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos	Tratamiento	Altura de planta (cm)	No. de entrenudos
IF S 30	13.2	16	AMI S 30	7.2	29
IF S 40	4.8	25	AMI S 40	8.5	14
IF S 50	4.5	14	AMI S 50	6.5	24
IF M 30	7.0	21	AMI M 30	5.0	43
IF M 40	5.2	10	AMI M 40	4.5	19
IF M 50	5.7	29	AMI M 50	4.8	15
LOM S 30	9.3	31	ATZ S 30	9.5	32
LOM S 40	3.7	9	ATZ S 40	1.8	6
LOM S 50	1.7	2	ATZ S 50	3.5	25
LOM M 30	5.0	45	ATZ M 30	4.8	28
LOM M 40	1.0	2	ATZ M 40	1.6	4
LOM M 50	1.4	3	ATZ M 50	0.9	3
TOL S 30	8.5	9	FLO S 30	4.3	28
TOL S 40	1.8	6	FLO S 40	1.4	17
TOL S 50	1.2	3	FLO S 50	2.7	33
TOL M 30	2.0	7	FLO M 30	2.5	16
TOL M 40	1.5	6	FLO M 40	1.4	18
TOL M 50	0.7	2	FLO M 50	5.0	14
IC S 30	11.2	17	405 S 30	2.0	7
IC S 40	1.7	5	405 S 40	2.7	8
IC S 50	2.6	8	405 S 50	2.0	15
IC M 30	6.0	23	405 M 30	1.8	11
IC M 40	5.0	19	405 M 40	4.5	13
IC M 50	4.2	10	405 M 50	4.4	30
377 S 30	1.8	4	XAL S 30	6.1	15
377 S 40	1.5	3	XAL S 40	2.2	12
377 S 50	1.5	5	XAL S 50	3.0	4
377 M 30	2.0	7	XAL M 30	3.3	16
377 M 40	2.2	8	XAL M 40	2.0	4
377 M 50	1.5	12	XAL M 50	1.4	4

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirichapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol

Cuadro 21A. Datos del porcentaje de regeneración de los diez clones de papa.

Tratamiento	Porcentaje de Regeneración (%)	Tratamiento	Porcentaje de Regeneración (%)
IF S 30	100	AMI S 30	80
IF S 40	90	AMI S 40	90
IF S 50	70	AMI S 50	70
IF M 30	90	AMI M 30	80
IF M 40	90	AMI M 40	90
IF M 50	80	AMI M 50	80
LOM S 30	100	ATZ S 30	100
LOM S 40	40	ATZ S 40	90
LOM S 50	50	ATZ S 50	100
LOM M 30	70	ATZ M 30	100
LOM M 40	60	ATZ M 40	60
LOM M 50	40	ATZ M 50	30
TOL S 30	60	FLO S 30	100
TOL S 40	80	FLO S 40	90
TOL S 50	30	FLO S 50	80
TOL M 30	50	FLO M 30	90
TOL M 40	80	FLO M 40	90
TOL M 50	40	FLO M 50	80
IC S 30	100	405 S 30	70
IC S 40	80	405 S 40	90
IC S 50	100	405 S 50	70
IC M 30	100	405 M 30	70
IC M 40	90	405 M 40	80
IC M 50	80	405 M 50	70
377 S 30	90	XAL S 30	50
377 S 40	100	XAL S 40	80
377 S 50	80	XAL S 50	40
377 M 30	70	XAL M 30	30
377 M 40	90	XAL M 40	70
377 M 50	90	XAL M 50	50

NOTA:

IF = Ictafrit

LOM = Loman

TOL = Tollocan

IC = ICTA Chiquirichapa

377 = Atlantic

AMI = Amigo

ATZ = Atzimba

FLO = Floresta

405 = Lemhi Russet

XAL = Xalapán

S = Sorbitol

M = Manitol



FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

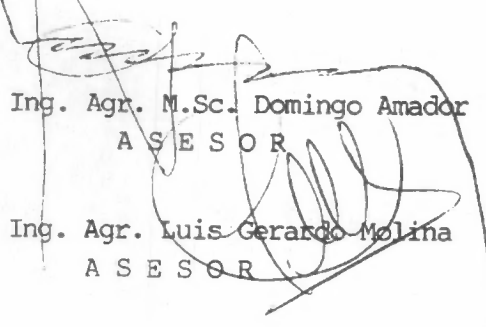
LA TESIS TITULADA: "EFECTO DE DOS REGULADORES OSMOTICOS EN LA CONSERVACION in vitro
DE DIEZ CLONES DE PAPA (Solanum tuberosum L.)"

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: EDWIN LEONEL ARGUETA VENTURA

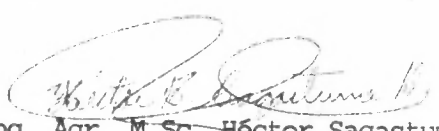
CARNET No: 9416981

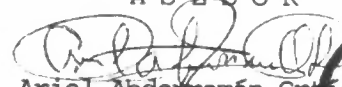
HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Francisco J. Vásquez Vásquez
Ing. Agr. Estuardo Roca Canet
Ing. Agr. Walter Reyes Sanabria

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. Domingo Amador
A S E S O R

Ing. Agr. Luis Gerardo Molina
A S E S O R


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


Dr. Ariel Abderramán Ortiz López
DIRECCION 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
IIA.

Archivo
AO/prr.

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.
TEL/FAX (502) 476-9794

e-mail: llusac.edu.gt § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>