

EFFECTO DEL FOTOPERIODO SOBRE LA MICROTUBERIZACIÓN *IN VITRO* DE TRES
GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

CHRISTIAN CAMILO RODRIGUEZ REY
EDIXON YAIR JARANILLO VILLOTA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO

2018

EFFECTO DEL FOTOPERIODO SOBRE LA MICROTUBERIZACIÓN *IN VITRO* DE TRES
GENOTIPOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

CHRISTIAN CAMILO RODRIGUEZ REY
EDIXON YAIR JARANILLO VILLOTA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Agrónomo

Asesor:
Ph.D. Javier García Álzate

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO

2018

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

“La Universidad de Nariño no se hace responsable de las opiniones o resultados obtenidos en el presente trabajo y para su publicación priman las normas sobre el derecho de autor”.

Artículo 13, Acuerdo N. 005 de 2010 emanado del Honorable Consejo Académico.

Nota de Aceptación:

Los Directores y los Jurados han leído el presente documento, escucharon la sustentación del mismo por su autor y lo encuentran satisfactorio.

Firma del Presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, noviembre de 2018

RESUMEN

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), es de gran importancia económica, por ser uno de los alimentos más consumidos en la actualidad y la propagación de plantas a través de explantes para producir microtubérculos con técnicas *in vitro*, son cada día más comunes, gracias a la tecnología, por lo cual, esta investigación se orientó a evaluar el efecto del fotoperiodo sobre la microtuberización *in vitro* de tres materiales de papa (Diacol Capiro, Parda Pastusa y Criolla genotipo yema de huevo). Los cultivos *in vitro* obtenidos a partir de explantes de los materiales evaluados, se sometieron a un periodo de incubación con 4 diferentes fotoperiodos (3, 8, 12 y 16 horas) y tres concentraciones de sacarosa (3, 7 y 9%), midiendo así, número de tallos, número de microtubérculos, peso seco y días a formación de microtubérculos. Los resultados mostraron que el genotipo Diacol Capiro presentó la mayor producción y peso seco de microtubérculos en un fotoperiodo de 8 horas luz en concentraciones de sacarosa del 7-9%, con un promedio de producción de 1.66 microtubérculos por explante; este material también registró el menor tiempo en tuberización, con un periodo de 50 días y la mayor producción de tallos con un promedio de 16 tallos por explante en una concentración de 3% de sacarosa.

Palabras clave: Fotoperiodo, microtubérculos, tuberización, *in vitro*.

ABSTRACT

The cultivation of potatoes (*Solanum tuberosum* L.), is of great economic importance, as it is one of the most consumed foods at present and the propagation of plants through explants for microtubers with *in vitro* techniques, are becoming more common to technology. Therefore, this research is aimed at evaluating the effect of photoperiod on *in vitro* microtuberization of potato materials (Diacol Capiro, Parda Pastusa and Criolla yolk variety of egg). The *in vitro* cultures were published in an incubation period with 4 different photoperiods (3, 8, 12 and 16 hours) and three of sucrose (3, 7 and 9%), measuring Thus, number of stems, number of microtubers, weight dry and days of microtubers formation. The results of the Diacol Capiro variety showed the highest production and the dry weight of the microtubules in a photoperiod of 8 light hours in the sucrose activities of 7-9%, with an average production of 1.66 microtubers per explant; this material also refers to the shorter time in tuberization with a period of 50 days and the highest production of stems with an average of 16 stems per explant at a concentration of 3% sucrose.

Key words: Photoperiod, microtubers, tuberization, *in vitro*.

CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCION -----	8
MATERIALES Y METODOS-----	10
RESULTADOS Y DISCUSION-----	13
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS-----	25
ANEXOS-----	30

INTRODUCCIÓN

Los cultivos de papa, son de gran importancia a nivel mundial; considerado el tercer producto más cultivado y el primero no cerealero, se comercializa en más de 100 países, logrando una producción de 376 millones de toneladas aproximadamente en el año 2016. Más de la mitad de estas siembras se reportan en países latinoamericanos (FAO, 2018). En Colombia el área sembrada proyectada para el 2018 es de 25.278 hectáreas, con una producción proyectada para el mismo año de 574.550 toneladas año (FEDEPAPA, 2018). Según FEDEPAPA (2018), en el país existen cerca de 250 variedades de papa y se dice que hay unas 30 variedades comerciales, pero las más importantes son: Pastusa Suprema, Diacol Capiro, Ica Única, Parda Pastusa, Ica Puracé, Tuquerreña y Roja Nariño.

El departamento de Nariño, participa con el 21% de la producción nacional y el 19,1% del área nacional sembrada, siendo el tercer departamento productor de papa en Colombia (Este departamento se vio favorecido en el primer trimestre del 2018, debido a las condiciones climáticas que permitieron un aumento en las cosechas de papa, proyectando un rendimiento de 23 Ton/has, es decir un 13% más que en el 2017. Se produce en 26 municipios siendo los principales: Ipiales, Pasto, Pupiales, Túquerres, Sapuyes, Potosí, Guachucal, Cuaspud, Contadero y Córdoba. En Nariño, los principales genotipos sembrados son Parda Pastusa, Pastusa Suprema, Diacol Capiro y Papa Criolla genotipo Yema de Huevo, donde la producción se destina en un 92% al mercado en fresco y 8% al procesamiento industrial (ICA, 2017).

En Nariño y en Colombia, la mayor parte de la producción de papa, se obtiene por semilla de los mismos agricultores en su propia finca, en otras fincas de la región o en los centros de abastos y no es usual entre los productores de papa renovar la semilla; esto ha provocado la producción de papa con altos costos, bajos rendimientos y de dudable calidad genética y sanitaria. La papa, es susceptible a muchos virus y enfermedades que van degenerando la calidad de las "semillas" con el número de cultivos (Haverkort y Verhagen, 2008).

La creciente demanda de semillas de calidad por parte del gremio de la cadena de la papa, permite proponer este tipo de tecnologías de multiplicación *in vitro*, de alto impacto, innovador

de sistemas tradicionales y de alta aplicabilidad para la producción del insumo primario, requerido para la multiplicación de semillas de papa, lo que permitirá ofrecer a los interesados en la producción de semillas de papa, una metodología eficiente y de alta calidad, para la producción de microtubérculos de tres genotipos importantes a nivel nacional, necesarios para el inicio de la multiplicación a nivel de invernadero y posteriormente en el campo (Jaramillo *et al*, 2011).

Es conocido, que diferentes genotipos de una especie, en este caso la papa, deben presentar variaciones en sus exigencias en cuanto a la duración del día para inducir los procesos de tuberización. Esta situación, se traduce en reducción de los rendimientos y calidad de la cosecha, debido al incremento acumulativo y la degeneración sufrida por los genotipos a través de los años, propagadas por vía vegetativa (Castro, 2005).

El proyecto pretende aportar en la solución de un gran problema presente en la cadena productiva de la papa, cual es la mínima oferta y demanda de semilla certificada de calidad, que según datos de la CODECTI (2014), En Nariño, el 95% de la producción se hace con semilla no certificada, incrementando los problemas fito-sanitarios y causando bajos rendimientos;

Con la utilización de semilla certificada de papa, se obtienen ventajas, como el aumento de la productividad, pues con este material, se calcula que los rendimientos pueden pasar de 20t/ha, a 40 t/ha, lo cual significa, además, un incremento de la rentabilidad de los productores. Sin embargo, la utilización de este insumo, es aún demasiado bajo y en el departamento de Nariño su uso es menor de 2% (FEDEPAPA, 2018).

El proyecto, tiende hacia la generación de una propuesta tecnológica, orientada a mejorar y eficientizar el proceso de la producción de uno de los primeros elementos, en la producción de semillas: la semilla élite y semilla súper élite. Tanto para mejoradores como para los productores especializados de semillas.

Este trabajo se plantea con el objeto de identificar los requerimientos fotoperiódicos óptimos de los genotipos de papa Parda Pastusa, Diacol Capiro (*Solamun tuberosum* L.) y Criolla (*Solamun*

phureja) (genotipo Yema de Huevo), en cuanto a la producción del mayor número y calidad de los microtubérculos producidos *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. Las actividades de siembra, propagación e incubación de los diferentes genotipos de papa, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación de Fisiología Vegetal y de Tejidos, localizados en la Sede central de la Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, la cual se encuentra a una altitud de 2540 msnm, con una temperatura interna de la zona de incubación del laboratorio entre 18°C-24°C, luminosidad 3500 lux y humedad relativa 60%.

Material vegetal. Inicialmente, se hizo una colecta en campo de tallos de plantas de papa cultivadas de los genotipos “Parda Pastusa”, “Diacol Capiro” y “Criolla” (var. Yema de Huevo), en el municipio de Túquerres y el corregimiento de Rio Bobo, teniendo en cuenta criterios como características morfológicas, físicas, fisiológicas, sanitarias, genéticas de producción. Se obtuvieron 2 tallos por planta de cada genotipo. Una vez seleccionado el material, este se almacenó en bolsas de papel kraft para facilitar su transporte, rotuladas con el nombre del genotipo y el lugar de colecta. De los tallos colectados, se obtuvieron los segmentos nodales, con los cuales se llevó a cabo la fase de propagación de material vegetal. (Fotografía 1)



Fotografía 1. A: Colecta de los genotipos de papa Diacol Capiro, Parda Pastusa y Criolla var. Yema de Huevo. **B:** Empaque de los tres genotipos de papa.

Preparación del medio de cultivo. Se adicionaron las soluciones Stock A y B en un volumen de 20 ml L⁻¹ de medio, las soluciones Stock desde C hasta I en un volumen de 5 ml L⁻¹ de medio (Anexo 1); se llevó a un volumen de 800ml con la adición de agua destilada estéril y se ajustó pH a 5,8 con la adición de NaOH 1N y HCl 0,5N; se adiciono agar 0,7 %, sacarosa 3% y se llevó a un volumen de 1 litro, finalmente se puso en baño maría hasta que la solución se homogenizó.

Preparación de contenedores: se aplicó hipoclorito de sodio al 13% y alcohol al 70% a cada contenedor, se dejó reposar y secar, luego de adiciono 25 ml de medio de cultivo, se selló con papel aluminio y se sometió a esterilización en autoclave.

Multiplificación de segmentos nodales. De los tallos colectados en campo, se hizo una selección por sus mejores características, para extraer yemas axilares, las cuales, fueron sumergidas durante 10 minutos en agua destilada esterilizada y TWEEN®20 y lavadas con agua destilada estéril, luego, fueron sumergidas en hipoclorito de sodio (NaOCl) al 3,5% durante cinco minutos y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril (Araque & Bohórquez, 2018).

Se preparó 3 litros de medio MS 62 (Murashige & Skoog, 1962) suplementado con vitaminas y 500ppm de ácido giberélico (AG₃), concentración de sacarosa (azúcar refinada comercial) 3%, agar 0,7 % y pH ajustado a 5,8 (Torres *et al.*, 2017) (Anexo 1).

Se utilizaron 50 frascos de vidrio de 250 ml de capacidad para cada genotipo, en el cual fueron cultivadas las yemas axilares (3 por frasco) asépticas con 25cc de medio, los explantes cultivados fueron incubados a 24 ± 1°C con fotoperiodo de 12 horas con luz fluorescente blanca durante dos meses.

Inducción de microtuberización. Los explantes nodales obtenidos en la etapa de multiplicación, se cultivaron en medio MS 62, suplementado con vitaminas (Anexo1) y la adición de sacarosa (3%, 7% y 9%) según el diseño experimental planteado, agar (0,7%) y pH ajustado a 5,8. Se utilizaron como contenedores 120 frascos de vidrio de 250 ml de volumen por genotipo para un total de 360 frascos en todo el ensayo y en cada uno de los cuales, se virtió 25ml de medio de cultivo según el respectivo tratamiento; se procedió a realizar todos los pasos del proceso de esterilización. Se sembró un segmento nodal en cada frasco el cual se tapó y selló,

rotulando cada uno con el material de siembra, concentración de sacarosa, fotoperiodo y fecha de siembra.

Los segmentos cultivados, se incubaron durante 90 días y fueron distribuidos en estantes metálicos cubiertos en su totalidad, según distribución de tratamientos y subtratamientos tanto por genotipo como fotoperiodo. La temperatura y humedad relativa fueron de 24°C y 60-70%, respectivamente. Las condiciones de fotoperiodo fueron controladas mediante el uso de temporizadores digitales, ajustados de acuerdo a los diferentes fotoperiodos establecidos. (Fotografía 2)



Fotografía 2. A: Disposición de tratamientos en estantería metálica y temporizadores digitales. **B:** cubierta de tratamientos e inducción de fotoperiodos.

Condiciones del medio. Para los procesos de multiplicación de material e inducción de microtuberización, antes de agregar agar (7g L^{-1}) y sacarosa, se ajustó pH a 5.8 y se esterilizaron en autoclave a 15 psi y 121°C durante 20 minutos junto con las herramientas de siembra (pinzas, gorros, tapabocas, guantes). El proceso de aislamiento y cultivo se llevó a cabo en cámara de flujo laminar previamente desinfectada con alcohol al 90%.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño Irrestrictamente al Azar con un arreglo trifactorial correspondiente a los factores Genotipos (1- Capiro; 2- Parda Pastusa; 3- Criolla), Concentración

de sacarosa (1-3%; 2-7%; 3-9%) y duración del fotoperiodo (1-3h; 2-8h; 3-12h; 4-16h), empleando diez contenedores de vidrio correspondientes a las repeticiones; cada uno representó la unidad experimental.

Para el análisis de los datos se realizó un Análisis de Varianza con las fuentes de variación correspondiente al diseño experimental propuesto; en aquellos casos de significancia estadística para las interacciones, se analizaron éstas sin tener en cuenta los efectos simples mediante pruebas de significación de t.

Variables evaluadas. Las estimaciones de las variables, se llevaron a cabo cada 15 días durante 3 meses, haciendo seguimiento a cada unidad experimental. Las variables evaluadas fueron:

Número de tallos. Se contabilizó el número de tallos en los explantes de cada unidad experimental a los tres meses posterior a la siembra.

Número total de microtubérculos obtenidos por explante. Se contabilizó el número de microtubérculos formados en cada uno de los explantes a los tres meses posterior a la siembra.

Peso seco de los microtubérculos. Se sometió los microtubérculos a un proceso de secamiento en horno a temperatura de 70°C durante un periodo de 24 horas, después se procedió a calcular su peso mediante la balanza de precisión y se calculó mediante la siguiente formula.

$$\% \text{ materia seca} = \frac{PF - PS}{PS} * 100$$

Siendo PF-peso fresco y PS-peso seco.

Días a formación de microtubérculos. Se evaluó y contabilizó cada 15 días la aparición de los microtubérculos en cada unidad experimental desde el inicio de la siembra hasta finalizar el ensayo 3 meses después de la siembra.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para el análisis de resultados se tuvieron en cuenta las siguientes clases y niveles (Tabla 1):

Tabla 1. Clases y niveles para analizar los datos, GENO: Genotipo, SACA: Sacarosa, FOTO: Fotoperiodo.

Procedimiento GLM		
Información del nivel de clase		
CLASE	NIVELES	VALORES
GENO	3	Diacol Capiro-Criolla-Parda pastusa
REP	10	1-2-3-4-5-6-7-8-9-10
SACA	3	3%, 7%, 9%
FOTO	4	3- 8- 12- 16

La Tabla 2, resume los resultados obtenidos en el estadístico de los diferentes factores para cada una de las variables analizadas, mostrando la interacción entre factores.

Tabla 2. ANDEVA representada para los genotipos de papa Parda Pastusa, Diacol Capiro (*Solanum tuberosum* L.) y Criolla (*Solanum phureja* Just et. Buck) (var. Yema de huevo).

FUENTE	GL	NTAL		NMTU		PSMT	
		SC	Pr>F	SC	Pr>F	SC	Pr>F
GENO	2	548,300	<,0001	22,628	<,0001	0,00071	0,0078
SACA	2	769,391	<,0001	5,612	0,0001	0,00148	<,0001
GENO*SACA	4	118,208	0,0431	0,721	0,3158	0,00011	0,5514
FOTO	3	31,916	0,5685	1,848	0,0291	0,00060	0,0065
GENO*FOTO	6	379,527	<,0001	0,711	0,3209	0,00014	0,4306
SACA*FOTO	6	28,873	0,7224	0,185	0,9341	0,00014	0,4167
GENO*SACA*FOTO	12	79,904	0,0692	0,847	0,1665	0,00022	0,0971

GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados. No. De tallos (NTAL), No. de microtubérculos (NMTU) y pesos seco de microtubérculos (PSMT).

Para el Número de Tallos las variables significativas fueron genotipo, sacarosa, interacción genotipo sacarosa, interacción genotipo-fotoperiodo y las variables no significativas fueron fotoperiodo, interacción sacarosa-fotoperiodo e interacción genotipo-sacarosa-fotoperiodo (Tabla 3).

Tabla 3. Significancia para los factores genotipo, sacarosa, en la variable No. de tallos.

Genotipo	Sacarosa (%)	Media Aritmética	Pr > t	Significancia
CAPIRO	3	15,66	<,0001	***
CAPIRO	7	10,04	<,0001	
CAPIRO	9	8,65	<,0001	
CRIOLLA	3	12,282	<,0001	***
CRIOLLA	7	10,264	<,0001	
CRIOLLA	9	5,151	<,0001	
PARDA	3	7,516	<,0001	***
PARDA	7	7,417	<,0001	
PARDA	9	5,531	<,0001	

Los valores representados con (***), muestran diferencias altamente significativas entre los diferentes factores.

La interacción genotipo con: fotoperiodo tiene diferencias significativas entre los tres genotipos y con las concentraciones de sacarosa para la variable número de tallos, destacando que en el genotipo *S. tuberosum* Diacol Capiro la mejor concentración de sacarosa que contribuyó a la mayor producción de tallos fue 3%, produciendo un promedio de 15.66 tallos.

Para la papa Criolla genotipo Yema de Huevo, la mejor concentración de sacarosa fue 3%, desarrollando 12,282 tallos en promedio. Igualmente el genotipo Parda Pastusa la mejor concentración de sacarosa fue 3% produciendo un promedio de 7.51 tallos en promedio.

Para explicar los anteriores resultados cabe resaltar lo expuesto Moreno, (2012), quien menciona, que en el crecimiento del tallo principal de la papa, se desarrollan los estolones, que se caracterizan por extremo apical curvado, entrenudos alargados y crecimiento diageotrópico, que dependiendo de la genotipo, se da bajo fotoperiodo corto, bajos niveles de nitrógeno y sacarosa. Para nuestro estudio el genotipo que mayor número de tallos produjo fue la Diacol Capiro con una concentración de sacarosa del 3%.

Estudios similares, como el de Arsenault y Cristie, (2004) reportan que la producción de tallos y tubérculos están relacionados con el tipo de explante utilizado siendo estos dos componentes, un pronóstico útil del rendimiento de cada cultivo. También, se requiere resaltar lo mencionado por Orbe, (2014) y Kittipadukal *et al.* (2012) quienes aseguran que el aumento en el número de tallos reduce el rendimiento, ya que se incrementa el número de tubérculos pequeños, más si las condiciones ambientales son limitadas o *in vitro*.

Antes de la tuberización, los foto asimilados, son utilizados para la formación de tallos, hojas y raíces; cuando los tubérculos crecen, su demanda de asimilados también (Oropeza, 2012; Dhital y Lim, 2012); el número de tallos es proporcional a la acumulación de materia seca en los microtubérculos en formación, que coincide con los resultados de este estudio, mostrando que la mayor cantidad de tallos ocurrió en la genotipo Diacol Capiro, que es la que mayor cantidad de microtubérculos presenta (Tabla 4).

Para el número de microtubérculos las variables genotipo de papa, concentración de sacarosa y fotoperiodo son significativas ($p < 0,05$), en cambio sus interacciones, genotipo-sacarosa, genotipo-fotoperiodo, sacarosa-fotoperiodo y genotipo-sacarosa-fotoperiodo no son significativas ($p > 0,05$), (Tabla 2).

En la Tabla 4, se muestran los resultados obtenidos de la comparación de los factores para la variable Número de Microtubérculos.

Tabla 4. Significancia para los factores genotipo, sacarosa, fotoperiodo en la variable No. de microtubérculos.

Comparación factores	Diferencia entre medias	Límite de confianza 95%
Genotipos		
Capiro - Parda	0,7161	0,4634 0,9687 ***
Capiro - Criolla	0,8493	0,5959 1,1027 ***
Parda - Capiro	-0,7161	-0,9687 -0,4634 ***
Parda - Criolla	0,1332	-0,1323 0,3987
Criolla - Capiro	-0,8493	-1,1027 -0,5959 ***
Criolla - Parda	-0,1332	-0,3987 0,1323
Sacarosa		
7-9	0,0264	-0,2307 0,2835
7-3	0,4168	0,1585 0,6751 ***
9-7	-0,0264	-0,2835 0,2307
9-3	0,3904	0,1372 0,6436 ***
3-7	-0,4168	-0,6751 -0,1585 ***
3-9	-0,3904	-0,6436 -0,1372 ***
Fotoperiodo		
8-16	0,0996	-0,2340 0,4332
8-3	0,3189	-0,0065 0,6443
8-12	0,3244	0,0086 0,6401 ***
16-8	-0,0996	-0,4332 0,2340
16-3	0,2193	-0,1153 0,5539
16-12	0,2248	-0,1004 0,5500
3-8	-0,3189	-0,6443 0,0065
3-16	-0,2193	-0,5539 0,1153
3-12	0,0055	-0,3113 0,3223
12-8	-0,3244	-0,6401 -0,0086 ***
12-16	-0,2248	-0,5500 0,1004
12-3	-0,0055	-0,3223 0,3113

Los valores representados con (***), muestran diferencias altamente significativas entre los diferentes factores.

Los resultados del Análisis de Varianza para la variable Número de Microtubérculos, muestran que la mayor producción fue registrada por el genotipo Diacol Capiro, seguida del genotipo Parda y por último la papa criolla genotipo yema de huevo.

Para sacarosa se observa que las concentraciones 7 y 9%, son las mejores para producción de microtubérculos a diferencia de sacarosa 3% que mostró diferencias altamente significativas con las otras dos concentraciones. Finalmente para el fotoperiodo se puede observar que a 8 horas luz se reportó la mayor cantidad de microtubérculos. (tabla4)

Se debe resaltar, que la respuesta de las especies, genotipos o cultivares no solo se debe al ambiente de cultivo, sino también a su genotipo (Pérez *et al.*, 2008) es por ello, que aunque se sometan a las mismas condiciones ambientales podrían existir diferencias entre genotipos.

Jaramillo *et al.* (2012) aseguran que la sacarosa, es el azúcar más utilizado *in vitro*; se comporta como un componente estructural, inductora de la morfogénesis, entre mayor sea su concentración, mayor será la fuente carbonada en el ensanchamiento de los estolones, convirtiéndose en almidón y desarrollando los microtubérculos. En su investigación se presentó que la mayoría de los microtubérculos se forman en las yemas axilares (puntos meristemáticos) y algunos pueden formarse en el medio de cultivo. Probablemente, los microtubérculos no se forman en la yema apical debido al alto contenido de auxinas característico de esta zona.

Se conoce que la sacarosa está relacionada con el crecimiento heterotrófico del tejido vegetal, ya que en ambientes *in vitro*, la producción de energía y carbohidratos por fotosíntesis son menores, esto indica que, sacarosa y fuentes de nitrógeno, son esenciales en el desarrollo de las plantas de papa, formación de tubérculos, raíces y alargamiento de sus yemas entre otros (Aldabe Y Dogliotti, 2009).

Autores como Cárdenas y Villegas, (2002) afirman que son varios los investigadores que utilizan altas concentraciones de sacarosa, para inducir la formación de tubérculos *in vitro*. Bajo este criterio, se evidencia que en la genotipo Diacol Capiro fue la única que tuvo diferencias altamente significativas a altas concentraciones de sacarosa.

Estos resultados coinciden con los de Montoya *et al.* (2008) quienes afirman, que la formación de tubérculos en *Solanum tuberosum* L fue mejor en concentraciones de 7 y 9%, Caso contrario,

ocurrió en el estudio de Sawwan *et al.* (1998); Paz y Villegas, (2009) donde la concentración de sacarosa a 3%, causo un efecto morfogénico negativo, sin tuberización, ni rizogénesis.

En cuanto al Fotoperiodo, varias investigaciones como la de Antonio A. *et al.* (2010) sugieren que para mejorar la calidad y el número de microtubérculos por planta, se debe manipular las condiciones de cultivo, destacando la temperatura y el fotoperiodo, es así, como Moreno y Oropeza (2017) estudiaron el efecto del fotoperiodo en dos genotipos de papa Arbolona Negra y Granola, la primera obtuvo mayor cantidad de microtubérculos en 8 horas luz, la segunda a 24 horas luz, concluyendo, que dependiendo de la genotipo se obtienen resultados diferentes. Así mismo, Seabrook, (2005) considera que el fotoperiodo es el principal factor ambiental, que controla la tuberización en papa y reporta, que las condiciones fotoperiódicas de días cortos induce la tuberización, además, menciona “La formación de Microtubérculos en las vitroplantas de papa, puede lograrse únicamente con la incubación bajo estas condiciones lumínicas, sin la adición de altas concentraciones de sacarosa u hormonas vegetales en el medio de cultivo”. Debido a que en éste estudio se sometieron las plántulas a diferentes concentraciones de sacarosa, los resultados de tuberización se vieron afectados en el genotipo Diacol Capiro, que fue el genotipo con la concentración de sacarosa alta y fotoperiodo bajo para la adecuada producción de Microtubérculos.

Para Peso Seco de Microtubérculos, los factores, genotipo, concentración de sacarosa y fotoperiodo, fueron significativas ($p < 0,05$), en cambio las interacciones genotipo-sacarosa, genotipo fotoperiodo, sacarosa-fotoperiodo y genotipo-sacarosa-fotoperiodo no fueron estadísticamente significativas (Tabla 2). En la Tabla 5 se observa el peso seco promedio de los Microtubérculos de cada genotipo.

.

Tabla 5. Significancia para los factores genotipo, sacarosa y fotoperiodo en la variable peso seco de microtubérculos.

Comparación factores	Diferencia entre medias	Límite de confianza 95%
	Genotipo	
Capiro - Parda	0,00424	0,00034 0,00814 ***
Capiro - Criolla	0,00460	0,00069 0,00852 ***
Parda - Capiro	-0,00424	-0,00814 -0,00034 ***

Parda - Criolla	0,00036	-0,00373	0,00446
Criolla - Capiro	-0,00460	-0,008522	-0,00069 ***
Criolla - Parda	-0,00036	-0,00446	0,00373
Sacarosa			
7-9	0,001583	-0,002388	0,005553
7-3	0,007224	0,003236	0,011213 ***
9-7	-0,001583	-0,005553	0,002388
9-3	0,005642	0,001731	0,009552 ***
3-7	-0,007224	-0,011213	-0,003236 ***
3-9	-0,005642	-0,009552	-0,001731 ***
Fotoperiodo			
8-16	0,006091	0,000939	0,011243 ***
8-3	0,001128	-0,003898	0,006153
8-12	0,004218	-0,000657	0,009094
16-8	-0,006091	-0,011243	-0,000939 ***
16-3	-0,004964	-0,010131	0,000204
16-12	-0,001873	-0,006895	0,003150
3-8	-0,001128	-0,006153	0,003898
3-16	0,004964	-0,000204	0,010131
3-12	0,003091	-0,001802	0,007983
12-8	-0,004218	-0,009094	0,000657
12-16	0,001873	-0,003150	0,006895
12-3	-0,003091	-0,007983	0,001802

Los valores representados con (***), muestran diferencias significativas entre los diferentes factores.

Los resultados del Análisis de Varianza para la variable Peso Seco de microtubérculos muestran que la mayor producción fue registrada por el genotipo Diacol Capiro. Para sacarosa se observa que las concentraciones 7 y 9%, son las mejores para Peso Seco de Microtubérculos a diferencia de sacarosa 3% que mostró diferencias altamente significativas con las otras dos concentraciones. Finalmente para el fotoperiodo se puede observar que a ocho horas luz se reportó el mayor Peso Seco de microtubérculos.

Los Genotipos Diacol Capiro y Parda Pastusa, mostraron un promedio de 0,077 y 0,076g respectivamente, en cambio la papa Criolla genotipo Yema de Huevo, tuvo el valor más bajo frente a las anteriores con un promedio de 0,038g, esto se debe posiblemente a que los genotipos Capiro y Parda Pastusa fueron las que más microtubérculos desarrollaron. Estos datos se encuentran en el rango reportado por López *et al.* (2009) quienes obtuvieron peso seco de tubérculos en valores entre 0,01 y 1,62g. Lo anterior, nos lleva a concluir que cada genotipo de papa se comporta de diferente forma dependiendo de múltiples factores tanto ambientales como genéticos.

Para Días a Tuberización, se tuvo en cuenta la primera formación de Microtubérculos para cada genotipo, en diferentes concentraciones de sacarosa y fotoperiodo, datos indicados en la siguiente tabla.

Tabla 6. Día de formación del primer microtubérculo de cada genotipo de papa, a una determinada concentración de sacarosa y un determinado fotoperiodo.

Días a tuberización			
Genotipo	Concentración de sacarosa (%)	Fotoperiodo (h)	Día a Tuberización
Capiro	9	8	50
Criolla	9	8	90
Parda Pastusa	7	16	70

El genotipo Diacol Capiro tuberizó a los 50 días posterior a su siembra, en una concentración de Sacarosa 9% y un fotoperiodo de 8 horas, la papa Criolla genotipo Yema de huevo tuberizó a los 90 días en una concentración de sacarosa de 9%, en un fotoperiodo de 8 horas y el genotipo Parda Pastusa tuberizó a los 70 días, posterior a su siembra, en una concentración de sacarosa del 7%, en un fotoperiodo de 16 horas; los tres genotipos presentan diferencias significativas en cuanto al día de formación de microtubérculos entre ellas.

Según Rothman y Tonelli (2010), mencionan que la tuberización inicia a los 55 días, lo que coincide o hay una aproximación con los resultados del presente trabajo, donde solamente la genotipo Diacol Capiro se acerca a este valor, pero para Piedra (2014) en genotipos precoces como la papa Criolla, la tuberización ocurre en 30 días después de la siembra, en genotipos intermedias, entre los 45 y 60 días y en las tardías después de los 60.

La tuberización, es un proceso morfológico, influenciado por variables genéticas, fisiológicas y medioambientales; influenciado por factores extrínsecos e intrínsecos (Sarkar, 2010). Aunque después de décadas de estudios al respecto, aún no se ha dilucidado un modelo que integre los procesos bioquímicos, moleculares y fisiológicos que se llevan a cabo dentro de la planta de papa, para la inducción de la tuberización. Viola *et al.* (2011) mencionan que, la sacarosa es la

fuelle carbonada más abundante en el ensanchamiento de los estolones, mientras que la concentración de glucosa y fructosa es más baja y muestra un patrón similar en todas las etapas de desarrollo.

En el presente estudio, no se observa una homogeneidad en los días a tuberización entre los genotipos de papa, esto posiblemente obedece, a que como lo menciona Jiménez y Muschler (2010), los factores que influyen en la tuberización de papa son; la característica propia de cada genotipo, la edad fisiológica de la semilla o explante, la humedad, temperatura, medio de cultivo (enriquecido con sacarosa) y la intensidad de la luz, entre otros.

Se debe tener en cuenta que los anteriores resultados se ven influenciados por las interacciones entre genotipo, sacarosa y fotoperiodo, lo que se explica, dada la complejidad de las interacciones entre carbohidratos y reguladores de crecimiento, debido a que esto está relacionado con múltiples especies moleculares activas inductoras de expresión genética diferencial y para muchos autores es difícil separar sus efectos (Piedra, 2014).

De igual forma varios estudios, entre ellos el de Navarro *et al.* (2011) indican que existen señales inductoras de floración y microtuberización, que podrían relacionarse y que además se han identificado mecanismos moleculares, donde se activan algunos genes específicos para la microtuberización.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta el comportamiento que presenta el cultivo de papa *in vitro* se puede obtener una mejor producción de Microtubérculos en los genotipos Diacol Capiro y Parda Pastusa cuando se someten explantes a altas concentraciones de sacarosa y fotoperiodo corto de 8 horas.

Los protocolos desarrollados en el presente proyecto pueden ser utilizados para la producción de microtubérculos de papa de los genotipos Parda Pastusa, Diacol Capiro y Criolla (genotipo Yema de Huevo).

Las plántulas y microtubérculos desarrollados pueden ser cultivados bajo condiciones controladas para la producción de semillas élite y súper élite.

El fotoperiodo juega un papel muy importante en el desarrollo de plantas de papa *in vitro* siendo así un elemento esencial en estudios de producción de microtubérculos, al igual, que los genotipos utilizados, condiciones ambientales y genética de las mismas, ya que también influyen sobre el comportamiento de las plantas.

La sacarosa es un elemento a tener en cuenta en la producción de microtubérculos *in vitro*, ya que dependiendo de sus concentraciones, la planta actúa de manera diferente y su desarrollo en la producción de microtubérculos puede verse favorecido cuando se utilizan altas concentraciones de esta, por el contrario cuando se utilizan concentraciones de sacarosa bajas, la planta se ve favorecida con el desarrollo de tallos mas no con la producción de microtubérculos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la fuerza y sabiduría para salir adelante en todos mis propósitos, por guiar y construir un camino lleno de esperanza para nuestras vidas y permitir culminar este proceso de aprendizaje.

A nuestros padres por su lucha constante, por la confianza depositada en cada uno de nosotros y el apoyo en todo este largo y arduo proceso de formación, gracias a su colaboración en el día a día y por inspirarnos a seguir sus pasos para formarnos como personas profesionales.

A nuestros hermanos, amigos y familiares, por el acompañamiento en todos estos años de lucha, constancia y dedicación, por hacer que cada día valga la pena y por mantener una sonrisa y esperanza en nuestros rostros.

A la Universidad de Nariño, sus docentes y directivos un enorme agradecimiento por la formación impartida a lo largo de nuestra carrera, por compartimos su sabiduría, sus experiencias y amistad. Gracias a su formación porque hoy somos personas profesionales con grandes valores.

Un sentido agradecimiento al personal de laboratorios por su colaboración en este proyecto, por sus consejos y ayuda en las actividades realizadas.

Al Dr. Javier García Álzate por su liderazgo en el presente proyecto y por su apoyo en cada etapa realizada.

A los jurados de tesis, el Dr. Hernando Criollo E. por la colaboración en el análisis e interpretación de datos estadísticos y por resolver cada una de las dudas que surgieron en el desarrollo de este proyecto y el Dr. German Chaves J. por el tiempo prestado y su colaboración en las correcciones realizadas.

RECOMENDACIONES

Llevar a cabo estudios encaminados a analizar diferentes tiempos de luz o fotoperiodos y concentraciones de sacarosa distintas a las evaluadas en este trabajo, que puedan representar un mejor desarrollo de las plantas cultivadas *in vitro*.

Desarrollar posteriores investigaciones que incluyan otros genotipos de papa y su producción en ambientes y condiciones similares en las desarrolladas en este estudio, para que de esta manera se puedan obtener mejores observaciones y tendencias de los resultados.

Llevar a cabo posteriores investigaciones de este tipo, donde se involucren evaluaciones más allá del laboratorio y puedan trascender hasta el campo con actividades mucho más rigurosas donde se logre una producción masiva de este tipo de materiales cultivados *in vitro* y de esta forma lograr obtener semillas certificadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aldabe, L. Y Dogliotti, S. (2009). Bases fisiológicas del crecimiento y desarrollo del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L). En Curso de Fisiología de Cultivos. Ciclo de Formación Central Agronómica. Universidad de la República. Uruguay. 16 p.
- Antonio, A. G. M., Javier, G. G. S., & Edith, V. G. E. (2010). Producción de plántulas y semilla prebásica de genotipos comerciales de papa libres de enfermedades.
- Araque Barrera, E. J., Bohórquez Quintero, M. D. L. A., Díaz, P., Estiben, J., Correa Mora, L. Y., Urquijo Ruiz, J. S.,... & Pacheco Maldonado, J. C. (2018). Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo*, 9(1), 21-31.
- Arsenault, W. J., & Christie, B. R. (2004). Effect of whole seed tuber size and pre-plant storage conditions on yield and tuber size distribution of Russet Burbank. *American journal of potato research*, 81(6), 371-376.
- Cárdenas Lara, M. A., & Villegas Monter, Á. (2002). Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25(2).
- Castro, H. (2005). Balance y prospectiva de la investigación en el campo de la fertilización para el sistema de producción de papa en Colombia. Bogotá: CEVIPAPA. 103p.
- Consejo Departamental de Ciencia, Tecnología e Innovación –CODECTI. (2014). Mejoramiento tecnológico y productivo del sistema papa en el departamento de Nariño.
- Dhital, S. P., & Lim, H. T. (2012). Microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) as influenced by supplementary nutrients, plant growth regulators, and *in vitro* culture conditions. *Potato research*, 55(2), 97-108.

FAO - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). FAOSTAT-CULTIVOS. Recuperado de: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>

FEDEPAPA – Fomento Nacional de Fomento de la Papa. (2014). Acuerdo de competitividad de la cadena agroalimentaria de la papa en Colombia. 71p.

FEDEPAPA – Fomento Nacional de Fomento de la Papa. (2018). Boletín mensual regional No. 03. Recuperado de <http://fedepapa.com/wp-content/uploads/2017/01/NARI%C3%91O-2018.pdf>.

Haverkort, A. J., & Verhagen, A. (2008). Climate change and its repercussions for the potato supply chain. *Potato Research*, 51(3-4), 223.

ICA-Instituto Colombiano Agropecuario (2017). Manejo fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* subsp. andigena y *S. phureja*). Medidas para la temporada invernal. Bogotá, D.C. 32 p.

Jaramillo Villegas, S., Morales Osorio, J. G., & Gilchrist Ramelli, E. (2011). Manejo integrado de sarna polvosa causada por *Spongospora subterranea* en papa. *Revista Ventana al Campo Andino (Colombia)* No. (1-2) p. 58-641657-5482.

Jaramillo, S., A; Rivera G., M. de J.; Montaña R., H.; Lozano G., & J. J. (2012). Microtuberization *in vitro* of four potato varieties. (*Solanum tuberosum* L). Consultado el 4 de Enero de 2016. Recuperado de: <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/ecologia/microtuber.pdf>.

Jiménez, F., & Muschler, R. (2010). Introducción a la agroforestería. *Funciones y aplicaciones de sistemas agroforestales. Módulos de Enseñanza Agroforestal CATIE/GTZ*, (6), 40.

Kittipadukal, P., Bethke, P. C., & Jansky, S. H. (2012). The effect of photoperiod on tuberisation in cultivated× wild potato species hybrids. *Potato research*, 55(1), 27-40.

- López R, Barandalla L, Ritter E, Hasse UN, Ruiz de Galarreta JI. (2009) Evaluación del valor nutritivo- nal de germoplasma nativo de patata para su incorporación en programas de mejora genética. *Rev latinoam papa*. 15 (1):55-57.
- Medina, R., Burgos, A., Difrancó, V., Mroginski, L., & Cenóz, P. (2012). Effects of chlorocholine chloride and paclobutrazol on cassava (*Manihot esculenta* Crantz cv. Rocha) plant growth and tuberous root quality. *Agriscientia*, 29(1), 51-58. Recuperado de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-98X2012000100006.
- Montoya, N., Castro, D., Díaz, J. & Ríos, D. (2008). Tuberización in vitro de papa (*Solanum tuberosum* L), variedad Diacol Capiro. En biorreactores de inmersión temporal y evaluación de su comportamiento en campo. *Revista Ciencia*, 16 (3)
- Moreno P. (2012). Efecto de la Composición del Medio de Cultivo y del Fotoperiodo sobre la Producción de Microtubérculos de Papa (*Solanum tuberosum* L.). Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Escuela de Biología. Caracas, Venezuela. Recuperado de: <http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/8159/1/Tesis%20Mayel%C3%AD%20Carolina%20Moreno.pdf>.
- Moreno, M., & Oropeza, M. (2017). Efecto de las hormonas vegetales y el fotoperiodo en la producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 25-34.
- Murashige, T., & Skoog, F.C. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497.

- Navarro, C., Abelenda, J. A., Cruz-Oró, E., Cuéllar, C. A., Tamaki, S., Silva, J.,... & Prat, S. (2011). Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. *Nature*, 478(7367), 119.
- Orbe V., K. (2014). Estación Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Biotecnología. Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/549/1/iniapscIABIOTECNOLOGIA2014.pdf>
- Oropeza, M. P. 2012. Efecto de la composición del medio del cultivo y del fotoperiodo sobre la producción de microtubérculos de papa *Solanum tuberosum*. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias.
- Paz, R. & Villegas, A. (2009). Niveles de sacarosa en el enraizamiento in vitro y aclimatización ex vitro plántulas del portainjerto de vid R110 (*Vitis rupestris* 'berlandieri'). *Interciencia*, 34(12), 897-902.
- Pérez, N. M., Restrepo, D. C., García, J. D., & Giraldo, D. R. (2008). Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L), genotipo Diacol Capiro, en biorreactores de inmersión temporal y evaluación de su comportamiento en campo. *Ciencia*, 16(3).
- Piedra B., M. A. (2014). Evaluación de la micro tuberización de los cultivares de papa INIAP victoria y Superchola, bajo sistemas de inmersión temporal. Universidad Central de Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2490/1/T-UCE-0004-68.pdf>.
- Rothman, S., & Tonelli, B. (2010). El cultivo del tomate. Universidad Nacional de Entre Ríos, Facultad de Ciencia Agropecuarias, Argentina. Recuperado de <http://www.fca.uner.edu.ar/academicas/deptos/catedras/horticultura/tomate2010.pdf>.

- Sarkar, D. (2010). Photoperiodic inhibition of potato tuberization: an update. *Plant Growth Regul.* 62(2):117-125
- Sawwan, J., Abu-Qaoud, H., & Hozain, M. (1998). Effect of sucrose level on *in vitro* and *ex vitro* growth of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl). *Advances in Horticultural Science, Firenze*, 12, 8-10.
- Seabrook J. (2005). Light effects on the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro*: A review. *American Journal of Potato Research*. 82: 353-367
- Torres, J., Alvarado, G., & Hernández, A. (2017). Regeneración *in vitro* de cuatro cultivares de papa (*Solanum tuberosum* L.) A partir de secciones de hoja y en presencia de diferentes reguladores de crecimiento. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 50(2), 134-146.
- Viola IL, Uberti Manassero NG, Ripoll R & Gonzalez hd (2011) El factor de transcripción TCP de Arabidopsis clase I AtTCP11 es un regulador del desarrollo con distintas propiedades de unión al ADN debido a la presencia de un residuo de treonina en la posición 15 del dominio TCP. *Biochem, J.* 435: 143 - 155

ANEXOS

Anexo 1

MEDIO MS 62						
Stock	Sales minerales	Formula estructural	Peso molecular g/mol	g/L en el stock	M-S. 62 1X mg/L	Volumen de Stock ml/L de medio
A	Nitrato de Amonio	NH_4NO_3	80	82,5	1650	20
B	Nitrato de Potasio	KNO_3	101	95,0	1900	20
C	Cloruro de Calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	110	88,0	440	5
D	Fosfato Monobásico de Potasio	KH_2PO_4	136	34	170	5
E	Ácido Bórico	H_2BO_3	60.81	1,24	6,2	5
	Molibdato de Sodio	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	406.76	0,05	0,25	
	Cloruro de Cobalto	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	129	0,005	0,025	
	Yoduro de Potasio	KI	165.9	0,163	0,83	
F	Sulfato de Magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	120,3	74,0	370	5
	Sulfato de Manganeso	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	150	3,45	22,3	
	Sulfato de Zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	161	1,72	8,6	
	Sulfato de Cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	159,54	0,005	0,025	
G	Ácido etilendiaminotetraacético	$\text{Na}_2\text{.EDTA}$	151,90	7,46	37,3	5
	Sulfato Ferroso Heptahidratado	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	292,24	5,57	27,3	
H	GLICINA	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$	75,07	0,4	2,0	5
	TIAMINA-HCl	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$	337,27	0,02	0,1	
	PIRIDOXINA-HCl	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	205,64	0,1	0,5	
	AC. NICOTINICO	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	123,11	0,1	0,5	
I	MIO-INOSITOL	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180,156	20,0	100	5

SACAROSA: 30 gramos/L de medio; pH=5,8

El $\text{Na}_2\text{.EDTA}$ y el $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Se coloca una cierta cantidad de agua destilada estéril, de la que se va a utilizar para llevar a volumen final de medio de cultivo, se coloca, a baño maría, se adiciona el EDTA, se disuelve y posteriormente el Sulfato Ferroso hasta que se disuelva completamente y se homogenicen, se deje enfriar y se rotula. (Murashige & Skoog, 1962).