



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Agropecuaria



INFORME FINAL

CRIA REGIÓN OCCIDENTE CADENA DE PAPA

**Aplicación de métodos biotecnológicos para la propagación de tres variedades de papa
(*Solanum tuberosum* L.) con fines de producción de tubérculo-semilla de alta calidad
fitosanitaria**

Ing. Agr. M. Sc. Aida Eleonora Ramírez Rodas
Investigadora Principal

Br. Yamileth Flor de María Alonzo Zárate
Investigadora Auxiliar

Quetzaltenango, Guatemala, diciembre de 2018

AGRADECIMIENTO:

Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Las opiniones expresadas en esta publicación son las de sus autores e instituciones a las que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implican la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan.

CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MARCO TEÓRICO	3
2.1 Importancia del cultivo de la papa en Guatemala	3
2.2 Principales zonas de producción en Guatemala	3
2.3 Situación actual del cultivo de la papa en Guatemala	3
2.4 Características de las variedades comerciales de papa priorizadas	4
2.5 Propagación de la papa por el método tradicional	4
2.6 Propagación de la papa por la técnica de cultivo de tejidos	5
3 OBJETIVOS	9
3.1 General	9
3.2 Específicos	9
4 HIPÓTESIS	9
5 METODOLOGÍA	10
5.1 Localidad	10
5.2 Época	10
5.3 Material Vegetal	10
5.4 Método	11
5.5 Diseño Experimental	15
5.6 Tratamientos	14
5.7 Tamaño de la unidad experimental	15
5.8 Modelo estadístico	15
5.9 Variables de respuesta	16
5.10 Análisis de la información	16
5.11 Manejo del experimento	16
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
6.1 Variable sobrevivencia	17
6.2 Variable número de tubérculos	18
6.3 Variable peso de tubérculos	23
6.4 Análisis Económico	25
7 CONCLUSIONES	29
8 RECOMENDACIONES	30
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	34

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

CIALO - Centro de Investigaciones del Altiplano Occidental, ICTA

CIP - Centro Internacional de la Papa

CRIA - Consorcio Regional de Investigación Agropecuaria

CUNOC - Centro Universitario de Occidente

ICTA - Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas

IICA - Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura

INE - Instituto Nacional de Estadística

FAO - Food and Agriculture Organization

FAOSTAT - Es un sitio de la FAO que proporciona acceso libre a datos sobre alimentación y agricultura

MAGA – Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala

USAC - Universidad de San Carlos de Guatemala

USDA - United States Department of Agriculture

PROYECTO CRIA

Aplicación de métodos biotecnológicos para la propagación de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con fines de producción de tubérculo-semilla de alta calidad fitosanitaria

*Aida Eleonora Ramírez Rodas**
*Yamileth Alonzo Zárate***

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo principal, contribuir al desarrollo de tecnología del cultivo de la papa en Guatemala utilizando métodos biotecnológicos en la producción de plántulas para la obtención de tubérculo-semilla de papa de alta calidad. Se evaluaron tres métodos biotecnológicos de propagación y aclimatación de plántulas. Método In Vitro: Transplante de las vitroplantas directamente de los recipientes de cultivo al invernadero definitivo; método Bandeja: Vitroplantas transplantadas a bandejas múltiples previo a ser sembradas en el invernadero definitivo; y método SAH: Sistema Autotrófico Hidropónico. Se determinó que, ninguno de los métodos presentó diferencia estadística significativa para las variables Sobrevivencia de Plántulas y Número de Tubérculos por Planta, de las variedades Loman e Ictafrit; se encontró diferencia estadística significativa para éstas mismas variables en la variedad Tollocan. Se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de Tubérculo de las variedades Loman y Tollocan, el mejor tratamiento fue el método Bandeja en comparación con los otros métodos. No se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de Tubérculo de la variedad Ictafrit en ninguno de los métodos evaluados. Para la variedad Loman con el método In vitro, se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos de la categoría de peso menor de 2 gramos, mientras que, para las variedades Ictafrit y Tollocan se obtuvo una distribución homogénea de tubérculos en todas las categorías de clasificación, con los tres métodos evaluados. Se recomienda, validar los resultados obtenidos, con productores de semilla de papa de otros departamentos de Guatemala.

*Investigadora Principal. Ingeniera agrónoma, Maestra en Ciencias.

**Investigadora Auxiliar. Tesista, Universidad de San Carlos de Guatemala –USAC–, Centro Universitario de Occidente –CUNOC–.

ABSTRACT

The main objective of this research was to contribute to the potato technology development in Guatemala. Three biotechnological methods of seedling propagation and hardening were evaluated in the production of high quality potato seed tubers. In Vitro Method: Direct transplanting of *in vitro* plantlets from culture vessels to greenhouse; Tray method: *In vitro* plantlets transplanted to multiple trays prior to being planted in the final greenhouse; and SAH method: Hydroponic Autotrophic System. It was determined that none of the methods presented a significant statistical difference for the variables Survival of Seedlings and Number of Tubers per Plant, for Loman and Ictafrit varieties; Significant statistical difference was found for these same variables for Tollocan variety. A statistically significant difference was found for the Tuber Weight variable for Loman and Tollocan varieties, the best treatment was the Tray method in comparison with the other methods. No significant statistical difference was found for the variable Tuber Weight for Ictafrit variety in any of the evaluated methods. For Loman variety with the *In vitro* method, a higher percentage of tubers, in the weight category of less than 2 grams, was obtained, while for the Ictafrit and Tollocan varieties, a homogeneous distribution of tubers was obtained in all the categories, with the three methods assessed. It is recommended, to validate the results obtained, with potato seed producers from other departments of Guatemala.

1. Introducción

La papa es una de las hortalizas tradicionales dentro de la agricultura guatemalteca, cuyas cosechas han sido destinadas principalmente al abastecimiento del mercado nacional y centroamericano. Esta actividad agro-productiva ha sido favorecida por la existencia de microclimas propicios con condiciones naturales que permiten su cultivo durante todo el año. Actualmente, se produce en 8 de los 23 departamentos del país, por eso se puede cultivar todo el año. El área cultivada, según diferentes fuentes, oscila entre 10,000 a 15,000 hectáreas, el rendimiento promedio es de 15 a 20 toneladas por hectárea (INE 2003).

El sector papicultor ha venido enfrentando múltiples problemas que inciden directamente en un bajo nivel de productividad, repercutiendo en la pérdida progresiva de los mercados nacionales y centroamericanos. Dentro de los principales problemas se encuentra el relacionado con el uso de semilla tradicional o del agricultor (FAO 1995). Debido a que este cultivo se propaga por tubérculos, frecuentemente lleva consigo numerosas enfermedades, se ha determinado que, sólo los virus reducen el rendimiento en el campo entre un 40 a un 70% (Adames 1999).

De acuerdo con la identificación de puntos críticos determinados en el taller realizado por la Red Nacional de Grupos Gestores (Red Nacional de Grupos Gestores 2016) se logró establecer, entre otros problemas, que la semilla que utilizan los productores es de baja calidad genética y fitosanitaria. Además se puso de manifiesto el poco conocimiento y acceso que tienen los productores a la semilla certificada. Los productores demandan semilla de alta calidad a precios accesibles y que se invierta más en investigación en el tema de semillas, ya que comprenden que la productividad del cultivo depende en gran parte de una semilla con buenas características genéticas y libre de enfermedades.

El ICTA, produce semilla pre-básica de papa bajo el sistema *In Vitro* – Invernadero – Campo, desde el año 1996. Este proceso ha sido desarrollado con el fin principal de producir semilla-tubérculo de alta calidad fitosanitaria, para contribuir al incremento del rendimiento del cultivo de la papa, sin embargo, los costos de producción por la utilización de varias técnicas se han incrementado, en rubros como: energía eléctrica, compuestos químicos, cristalería, equipos y otros insumos para la producción de vitroplantas. De acuerdo con Mejía (2006), se determinó que el costo de las vitroplantas es uno de los factores por los que los productores han tenido poco acceso a este tipo de material además del desconocimiento en el manejo de vitroplantas a nivel de invernadero.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal el de contribuir al desarrollo de tecnología del cultivo de la papa en Guatemala utilizando métodos biotecnológicos en la producción de plántulas para la obtención de tubérculo-semilla de papa de alta calidad fitosanitaria.

Se evaluaron tres métodos biotecnológicos de propagación y aclimatación de plántulas de papa. Método *In Vitro*: Transplante de las vitroplantas directamente de los recipientes de cultivo al invernadero definitivo; método Bandeja: Vitroplantas transplantadas a bandejas múltiples previo a ser sembradas en el invernadero definitivo; y método SAH: Sistema

Autotrófico Hidropónico. Este sistema se basa en los conceptos del cultivo fotoautotrófico combinados el cultivo hidropónico, manteniendo ciertos requerimientos y técnicas de la micropropagación tradicional, a un costo más accesible (Rigato, 2002). En la actualidad, el productor semillero de Argentina cuenta con este sistema de producción de plántulas, por su fácil implementación (Maraima 2009).

En el laboratorio de Biotecnología de ICTA-CIALO, se validó el sistema SAH en los años 2012 y 2013. Se determinó los mejores sustratos y los factores más adecuados sobre el crecimiento y enraizamiento de plántulas de siete variedades de papa, incluyendo Loman, Ictafrit y Tollocan, bajo condiciones controladas y bajo condiciones de invernadero previo a la siembra definitiva (ICTA 2012) (ICTA 2013).

La primera fase de la investigación que incluyó actividades como, pruebas de ELISA, micropropagación, propagación por SAH y el trasplante y adaptación a invernadero, se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA-CIALO), Quetzaltenango y la siguiente fase, a nivel de ensayo de finca, comprendió la siembra y manejo agronómico de las plántulas obtenidas, por los tres métodos biotecnológicos, para la producción de tubérculo-semilla de papa, se realizó en las instalaciones de los productores de semilla de papa de la Asociación el Esfuerzo, ubicada en la comunidad de San Andrés Chapil, del municipio de San Pedro Sacatepéquez, San Marcos.

Se concluyó que, ninguno de los métodos presentó diferencia estadística significativa para las variables Supervivencia de Plántulas y Número de Tubérculos por Planta, de las variedades Loman e Ictafrit; se encontró diferencia estadística significativa para éstas mismas variables en la variedad Tollocan. Se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de Tubérculo de las variedades Loman y Tollocan, el mejor tratamiento fue el método Bandeja en comparación con los otros métodos. No se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de Tubérculo de la variedad Ictafrit en ninguno de los métodos evaluados. Para la variedad Loman con el método In Vitro, se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos de la categoría de peso menor de 2 gramos, mientras que, para las variedades Ictafrit y Tollocan se obtuvo una distribución homogénea de tubérculos en todas las categorías de clasificación, en los tres métodos evaluados.

De acuerdo con los resultados de la investigación se determinó que, para las variedades Loman e Ictafrit cualquiera los métodos evaluados se constituye en una alternativa de producción de semilla-tubérculo de alta calidad y accesible para los productores de semilla de papa de la región. En el caso de la variedad Tollocan, se recomienda utilizar los métodos Bandeja y SAH. Para la variedad Loman se recomienda el método Bandeja, seguido del método SAH, para la producción de tubérculo-semilla de acuerdo con las variables peso de tubérculo y número de tubérculos por categoría (clasificación CIP, Anexo 4). Para la variedad Ictafrit, cualquiera los métodos evaluados se constituye en una alternativa de producción tubérculo-semilla de papa. Para la variedad Tollocan se recomienda el método Bandeja para la producción de tubérculo-semilla de acuerdo con las variables Supervivencia, peso de tubérculo y número de tubérculos por categoría, según la clasificación CIP.

2. Marco teórico

2.1 Importancia del cultivo de la papa en Guatemala

La papa es el tercer cultivo alimenticio luego del arroz y del trigo (FAOSTAT 2012). Los principales países productores de papa en el mundo son China, Rusia e India. Los países de mayor nivel tecnológico son Estados Unidos, Canadá y la Comunidad Europea. La producción mundial de la papa alcanza los 325 millones de toneladas por año (Huarte 2013).

La papa en Guatemala está considerada como una hortaliza y constituye el tercer cultivo en importancia, después del frijol. El tubérculo de la papa es importante fuente de carbohidratos (almidón), proteínas de alta calidad, vitamina C y minerales. Actualmente, se produce en 8 de los 23 departamentos del país, por eso se puede cultivar todo el año. El área cultivada, según diferentes fuentes, oscila entre 10,000 a 15,000 hectáreas, el rendimiento promedio es de 15 a 20 toneladas por hectárea (INE 2003). Otro de los aspectos importantes del cultivo para Guatemala, lo constituye el hecho de que este cultivo es fundamental para los pobladores de las áreas marginales (arriba de 3000 msnm), ya que en su explotación utiliza una media de 320 jornales/ ha. Con relación a la comercialización de la papa, del total de la producción, el 92% se consume a nivel nacional, y es la variedad Loman la preferida, ya que de esta variedad se siembra el 74% del área total de papa cultivada en Guatemala. Con respecto al consumo de papa, el promedio nacional por persona por año es 22.8 kg. Otro de los aspectos importantes del cultivo, lo constituye su ventaja de productividad con relación a otros cultivos que se siembran en el mismo hábitat. El rendimiento promedio de la papa es de 20 toneladas por hectárea, lo que representa un ingreso de Q. 26,349.00, en comparación con el maíz, que tiene un rendimiento de 3 t/ha, con un ingreso de Q. 3,960.00 (Chávez 2010).

2.2 Principales zonas de producción en Guatemala

De acuerdo con las condiciones bioclimáticas de las regiones, dentro de las áreas óptimas para el cultivo de la papa se encuentran los siguientes departamentos: Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Sololá, Chimaltenango, Sacatepéquez, Quiché, Totonicapán, Guatemala, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Jutiapa y Jalapa (MAGA 2002).

2.3 Situación actual del cultivo de la papa en Guatemala

En Guatemala, el cultivo de la papa se realiza en áreas con temperaturas templadas, preferentemente menores de 20°C. En este tipo de clima la papa se desarrolla adecuadamente y se obtiene la mejor productividad, hay poca dificultad con plagas y enfermedades y los tubérculos se desarrollan bien fisiológicamente. Se cuenta con la ventaja que Guatemala posee 17 microclimas que permiten cultivar papa a lo largo de todo el año. El ciclo del cultivo en Guatemala, oscila entre los 70 – 100 días. Según diferentes estudios, la calidad de la papa queda definida por su forma y tamaño (uniforme y sin defectos físicos), limpieza (libre de enfermedades y virus) y textura (MAGA 2002).

De acuerdo con la identificación de puntos críticos determinados en el taller realizado por la Red Nacional de Grupos Gestores (Red Nacional de Grupos Gestores 2016) se logró establecer, entre otros problemas, que la semilla que utilizan los productores es de baja calidad genética y fitosanitaria. Además se puso de manifiesto el poco conocimiento y acceso que tienen los productores a la semilla certificada. Los productores demandan semilla de alta calidad a precios accesibles y que se invierta más en investigación en el tema de semillas, ya que comprenden que la productividad del cultivo depende en gran parte de una semilla con buenas características genéticas, y libre de enfermedades.

2.4 Características de las variedades comerciales de papa priorizadas

Variedad Loman

Planta con tallos y hojas de color verde oscuro. La planta alcanza alturas entre 0.70 a 0.75 m, con tallos erectos, follaje verde obscuro. En condiciones de campo no produce flores o algunas veces pocas, floración entre 55 a 60 días, de color blanco. Los tubérculos son oblongos, de color crema en su exterior e interior. Se adapta bien a altitudes de 1,700 a 2,390 msnm almidón. El ciclo del cultivo es de 110 a 115 días. Rinde de 25 a 50 t/ha (Chávez 2010).

Variedad Ictafrit

La planta alcanza alturas entre 0.80 a 0.90 m, con tallos erectos, follaje verde obscuro, floración entre 70 a 130 días, flores de color rosado. Los tubérculos son oblongo alargado, de color blanco en su interior y con coloraciones rosadas. Se adapta a altitudes entre 2,390 a 3,500 msnm. El ciclo de cultivo es de 125 a 170 días. Es tolerante al ataque de tizón y rinde de 20 a 60 t/ha (Chávez 2010).

Variedad Tollocan

La planta alcanza alturas entre 0.70 a 0.75 m, con tallos erectos, follaje verde obscuro, floración entre 55 a 60 días, flores blancas. Los tubérculos son oblongos, de color crema en su exterior e interior. Se adapta bien a altitudes entre 1,700 a 2,390 msnm. El ciclo de cultivo es de 110 a 115 días. Es tolerante de tizón tardío y rinde de 25 a 50 t/ha (Chávez 2010).

2.5 Propagación de la papa por el método tradicional

La propagación comercial de la papa se realiza generalmente por tubérculos, siendo ésta la forma tradicional de siembra, para la cual se utilizan aproximadamente entre 3.5 y 4 toneladas por hectárea, lo que en superficies de cientos de miles de hectáreas representa una enorme cantidad de tubérculos dedicados a la siembra. Si se utilizara semilla sexual se ahorrarían estos tubérculos, pero esto no es posible ya que este tipo de propagación provoca una gran variación genética dentro del cultivo. Debido a que este cultivo se propaga por tubérculos, frecuentemente lleva consigo numerosas enfermedades, principalmente virus, micoplasmas, bacterias y hongos; sólo los virus reducen el rendimiento en el campo de un 40 a

un 70%. En consecuencia, para garantizar un alto rendimiento en el campo, el tubérculo a utilizar para la siembra deberá estar libre de enfermedades (Adames 1999).

Actualmente existe una producción moderna de tubérculo apto para la siembra, pero esta es una tarea compleja y especializada, la cual se divide en tres etapas, la primera de laboratorio, la segunda de invernadero y la tercera de campo. Bajo esta condición, en la segunda etapa o de invernadero, el objetivo es la producción de minitubérculo (semilla pre-básica) el cual se puede obtener a partir de las plantas in vitro o del microtubérculo sano producido en la etapa uno.

La tercera fase se inicia con la siembra del minitubérculo en el campo para la obtención de la categoría Básica de tubérculo, la cual al sembrarse dará semilla Registrada (R), ésta será denominada R1 y en las siembras sucesivas R11, RUI y finalmente la categoría de Certificada, la cual es la que se utiliza para la producción comercial, por lo que para ello se requieren seis generaciones o ciclos agrícolas de campo (Adames 1999).

2.6 Propagación de la papa por la técnica de cultivo de tejidos

En el cultivo de la papa uno de los principales problemas es la presencia de las enfermedades virales, las cuales son fácilmente diseminadas por medio de la semilla. Es por esta razón que se debe iniciar la actividad con semilla de alta calidad. Las técnicas biotecnológicas como el cultivo de tejidos, consisten en un proceso mediante el cual células, tejidos u órganos bajo condiciones estériles, en presencia de un medio de cultivo balanceado, de nutrientes y reguladores del crecimiento, que permite la producción de plantas o tubérculos pequeños, denominados vitroplantas o micro-tubérculos, según sea el caso. Este proceso, que se lleva a cabo en el laboratorio, asegura la obtención de semilla libre de virus, con pureza varietal, es decir, sin mezclas de variedades, y con incrementos en el rendimiento y la calidad (Flores 2002).

Los agricultores serían más competitivos a escala mundial si dispusieran de las tecnologías apropiadas para enfrentar el proceso de globalización.

2.6.1 Eliminación de agentes patógenos para la producción de tubérculo-semilla de alta calidad

La eliminación de virus en materiales de papa infectados se realiza en el laboratorio de biotecnología de ICTA-CIALO, mediante dos procedimientos biotecnológicos, la termoterapia y el cultivo de meristemos, previo a realizar la micropropagación de los materiales.

Los procesos de desinfección a los cuales se somete el material vegetal durante la fase 0 de la micropropagación, son suficientes para eliminar los microorganismos patógenos y no patógenos, que se encuentran en la superficie de las hojas. Las enfermedades sistémicas, producidas por bacterias, virus, micoplasmas y rickettsias pueden escapar y diseminarse con el material que se propaga, sino se realiza los procedimientos de termoterapia y cultivo de meristemos. Contar con un material óptimo como punto de partida, es el resultado de la integración de diferentes aspectos, tales como, la selección adecuada en el campo de las

plantas donantes, la utilización de técnicas de diagnóstico confiables y métodos eficientes de saneamiento que garanticen la eliminación del patógeno (Pérez 1998). Para la detección de agentes virales, se han creado métodos serológicos como ELISA y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos (PCR), que son muy empleadas en la actualidad (Salazar 1995).

2.6.2 Método de Micropropagación

Es un método de la biotecnología que se aplica a especies vegetales con el fin de obtener un volumen grande de plantas en el menor período de tiempo posible. Se le conoce como una biotecnología de «respuesta rápida», puesto que se logran resultados en períodos de 3 a 6 meses (Hurtado 1994).

2.6.3 Traspaso desde el medio nutritivo al sustrato

De acuerdo con Pierik (1996), una planta que se ha originado *in vitro*, difiere en muchos aspectos de las que se originan *in vivo*, a continuación se explica algunos de esos factores:

1. Las plantas cultivadas en tubos de ensayo tienen generalmente la cutícula (capa de cera) escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa, 90-100%, que se da *in vitro*. Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja. Las hojas de una planta producida *in vitro*, son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas, y en consecuencia mal adaptadas a las condiciones que se pueden encontrar *in vivo*. Las plantas procedentes de tubo de ensayo tienen las células empalizadas, que son las que deben utilizar la luz, más pequeñas y en menor cantidad.

2. Las raíces que se han originado *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* (no tienen o tienen pocos pelos radicales); por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces subterráneas. Un desarrollo pobre del sistema radicular hace que, el crecimiento *ex vitro* se haga muy difícil, especialmente cuando hay una elevada transpiración. Es de vital importancia que las plantas *in vitro* pierdan la menor cantidad de agua posible, cuando pasan a condiciones *in vivo*.

2.6.4 Aclimatación

Para esta etapa existen varios nombres; adaptación, aclimatación, endurecimiento, etc., sin embargo se usa aclimatación porque esa palabra significa especialmente la adaptación del medio ambiente artificial al medio ambiente natural (ICTA 1997).

Hurtado (1994), explica que, una vez efectuada la fase de aclimatación las plantas pueden ser transportadas al invernadero definitivo, donde serán colocadas en un sustrato, proporcionándoles un buen drenaje y aireación para evitar el desarrollo de hongos y bacterias. Antes de efectuar el trasplante es recomendable que el sustrato sea esterilizado por medios

físicos o químicos, lo cual reducirá la incidencia de patógenos, particularmente aquellos que causan la pudrición de la raíz.

La actividad fotosintética durante las primeras etapas de la planta bajo condiciones *in vitro* no es necesaria, ya que a la planta se le suministran los elementos básicos para su desarrollo mediante un medio nutritivo, encontrándose así en un estado heterotrófico y pasando a un estado autotrófico al ser transplantados al suelo. En el invernadero se recomienda tener un estricto control fitosanitario, particularmente en aquellos casos donde el objetivo fundamental es la obtención de plantas libres de patógenos (INTA 2002).

2.6.5 Métodos de aclimatación

1. Método de transplante directamente de los recipientes de cultivo de *in vitro*

Las vitroplantas producidas en el laboratorio deben presentar un tamaño aproximado de 4 cm. y un sistema radical significativo con el fin de que soporten esta etapa. Una vez trasladados los frascos al invernadero de adaptación se les elimina el sello de plástico y se colocan durante ocho días debajo de un techo de sarán con un 60% de paso de luz, con el fin de que este proceso sea gradual y así asegurar la sobrevivencia del material (Flores 2002).

Después de ocho días se sacan las vitroplantas de los frascos, se lavan las raíces de cada planta y se siembran en el sustrato del invernadero definitivo; nuevamente se colocan debajo de un techo de sarán con un 60% de paso de luz durante ocho días más.

El riego es importante en los primeros 22 días. Una vez transcurridos los ocho días se les elimina el sarán y se les deja a exposición total a la luz (Flores 2002).

2. Método de vitroplantas transplantadas a bandejas múltiples

Cuando las plantas han alcanzado un tamaño de 4 cm y un buen desarrollo radicular, se realiza el transplante a sustrato. Para esto, se utiliza un sustrato de peat moss, distribuido en bandejas múltiples que se usan para semilleros. Se lava bien cualquier residuo de agar y se procede a plantar una vitroplanta en cada agujero. Se dejan bajo condiciones de invernadero durante 12 a 14 días y se procede a realizar la siembra en el sustrato del invernadero definitivo para la producción de mini-tubérculos (tubérculo-semilla) (ICTA 2004).

3. Método SAH (Sistema Autotrófico Hidropónico)

El SAH, es un sistema de propagación que fue desarrollado bajo el principio de que las plantas *in vitro* tienen una pequeña capacidad fotosintética que, al proporcionarles condiciones físicas adecuadas pueden crecer autotróficamente en contenedores amplios de plástico, con sustrato y soluciones nutritivas, sin adicionar sacarosa y reguladores de crecimiento (Maraima 2009). Está basado en los principios del cultivo de tejidos vegetales y la técnica de hidroponía.

En la actualidad, el productor semillerista de Argentina cuenta con un sistema de producción de plántulas de fácil implementación: SAH, sistema autotrófico hidropónico. Esta

tecnología, desarrollada en el Laboratorio de cultivos *In Vitro* del PROPAPA (Proyecto Integrado Para el Mejoramiento de la Calidad de la Papa), le permite producir al agricultor sus propias plántulas *in vitro* sin necesidad de un sofisticado laboratorio o equipamiento. Además, el sistema SAH permite producir una mayor cantidad de plántulas en menor tiempo, de mejor calidad fisiológica, de mayor adaptación al trasplante y a un menor costo que el sistema tradicional (Maraima 2009).

En el laboratorio de Biotecnología de ICTA-CIALO, se validó el sistema SAH en el año 2012, mediante el proyecto Validación del Sistema Autotrófico Hidropónico: Efecto de cinco sustratos en la obtención de plántulas de siete variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con el sistema autotrófico hidropónico (–SAH–) para la producción de semilla básica. Se determinó que no existió significancia estadística entre los cinco sustratos evaluados sobre el crecimiento y enraizamiento de plántulas de las siete variedades de papa, incluyendo Loman, Ictafrit y Tollocan, estudiadas bajo este sistema de propagación. De acuerdo con los resultados obtenidos se continuo la con la Etapa II de esta actividad, en el año 2013, logrando determinar los factores más adecuados de adaptación bajo condiciones de invernadero de las plántulas producidas bajo el sistema SAH previo a la siembra definitiva (ICTA 2012) (ICTA 2013).

2.6.6 Protocolo de micropropagación de papa (*Solanum tuberosum* L.) utilizado en el ICTA

ETAPA I: Inicio del cultivo *in vitro*

A partir de las vitroplantas regeneradas a partir de meristemos, y que han probado estar libres de virus y otros patógenos, se inicia el cultivo *in vitro*. Se diseccionan las plántulas para obtener microesquejes, esto es una porción de tallo conteniendo una yema axilar. Bajo condiciones asépticas, se colocan los propágulos sobre la superficie del medio de cultivo (Murashige & Skoog, MS) previamente esterilizado y se trasladan al cuarto de crecimiento por 4 semanas, para su crecimiento.

En el cuarto de crecimiento las condiciones de incubación son: 25 ± 2 °C; fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

ETAPA II. Micropropagación (multiplicación masiva)

Se subcultivan las plantas provenientes de los microesquejes, en el medio de multiplicación (MS) hasta alcanzar el volumen de plantas requerido para cada uno de los materiales de papa.

ETAPA III: Enraizamiento *in vitro*

El enraizamiento de las vitroplantas se realiza en el mismo medio de cultivo, sin la adición de fitohormonas sintéticas.

ETAPA IV: Trasplante y adaptación a condiciones de invernadero

Cuando las plantas han alcanzado un tamaño de 4 cm y un buen desarrollo radicular, se realiza el trasplante a sustrato. Para esto, se utiliza un sustrato de peat moss, distribuido en bandejas múltiples que se usan para semilleros. Se lava bien cualquier residuo de agar y se procede a plantar una vitroplanta en cada agujero. Se dejan bajo condiciones de invernadero durante 12 a 14 días y se procede a realizar la siembra en el sustrato del invernadero definitivo para la producción de mini-tubérculos (tubérculo-semilla) (ICTA 2004).

Guatemala tiene una gran ventaja en comparación con otros países que dependen de la importación de tubérculo-semilla para la producción de papa, ya que, se tiene la capacidad para producir semilla de alta calidad fitosanitaria. Al depender de la importación de semilla, esto implica erogaciones de divisas, aumento de los costos de producción, riesgo de introducción al país de nuevas plagas y enfermedades, y pérdidas por deterioro de los tubérculos-semilla durante la importación y almacenamiento (Ojeda, 2014). Una de las alternativas en el esquema de la producción de semilla pre-básica de papa es la micropropagación, a través del uso de las vitroplantas.

3. Objetivos

General:

- Contribuir al desarrollo de tecnología del cultivo de la papa en Guatemala utilizando métodos biotecnológicos en la producción de plántulas para la obtención de tubérculo-semilla de papa de alta calidad fitosanitaria.

Específicos:

- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Loman, bajo condiciones de invernadero.
- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Ictafrit, bajo condiciones de invernadero.
- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Tollocan, bajo condiciones de invernadero
- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Loman.
- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Ictafrit.
- Evaluar el efecto de tres métodos biotecnológicos de propagación sobre la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Tollocan.

4. Hipótesis

Ha1.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Loman.

Ha2.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Ictafrit.

Ha3.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la sobrevivencia de plántulas de papa variedad Tollocan.

Ha4.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Loman.

Ha5.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Ictafrit.

Ha6.: Uno de los métodos evaluados presentará diferencia estadística significativa en la producción de tubérculo-semilla de papa variedad Tollocan.

5. Metodología

5.1 Localidad

La investigación se realizó en dos localidades:

1. Instalaciones del Laboratorio de Biotecnología, ICTA-CIALO, Estación Experimental Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango. La estación experimental Labor Ovalle se encuentra localizada en las coordenadas siguientes:

Latitud Norte: 14°52'16" y Longitud Oeste: 91°30'52", a una altitud de 2,373 metros sobre el nivel del mar.

2. Instalaciones de la Asociación de semilleros de papa El Esfuerzo, San Andrés Chapil, San Pedro Sacatepéquez, San Marcos. Se localiza en las coordenadas siguientes: Latitud Norte 15° 0' 0" y Longitud Oeste 91° 47' 0". Su altitud es de 2,483 metros sobre el nivel del mar.

5.2 Época

La investigación se realizó bajo condiciones controladas (laboratorio) y semi-controladas (invernadero), por lo que puede iniciarse en cualquier época del año. La duración del proyecto de investigación fue de 24 meses.

5.3 Material vegetal

El material vegetal provino del Banco de Germoplasma *in vitro* localizado en el Laboratorio de Biotecnología, ICTA-CIALO, Quetzaltenango. Se realizó la prueba de ELISA al material vegetativo para el diagnóstico de los cuatro virus de mayor prevalencia en la región, a saber, PVX, PVY, PVS y PLRV. Después de asegurar la fitosanidad del material

inicial se procedió a propagar las tres variedades comerciales más demandadas por los productores:

1. Variedad Loman
2. Variedad Ictafrit
3. Variedad Tollocan

5.4 Método

A continuación se describen los métodos que se evaluaron en la presente investigación:

5.4.1. Método de transplante directamente de los recipientes de cultivo de *in vitro*

ETAPA I. Inicio de cultivo *in vitro* de microesquejes

Se obtienen los microesquejes bajo condiciones asépticas, los propágulos se colocan sobre la superficie del medio de cultivo previamente esterilizado y se trasladan al cuarto de crecimiento por 4 semanas. Las plantas deben ser habituadas a un crecimiento normal, ya que se han mantenido por varios meses con retardantes de crecimiento. El medio de cultivo que se utiliza es Murashige y Skoog (MS).

ETAPA II. Micropropagación (multiplicación masiva)

Se subcultivan las plantas provenientes de los microesquejes, en el medio de multiplicación (MS) hasta alcanzar el volumen de plantas requerido para cada uno de los materiales de papa.

ETAPA III: Enraizamiento *in vitro*

El enraizamiento de las vitroplantas se realiza en el mismo medio de cultivo, sin la adición de fitohormonas sintéticas.

ETAPA IV: Adaptación a condiciones de invernadero

Esquema del Método 1



Fig. 1. Vitroplantas

Fig. 2. Transplante a invernadero definitivo

Fig. 3. Plántula en invernadero

5.4.2. Método de vitroplantas transplantadas a bandejas múltiples

Al igual que para el Método 1, se realiza las etapas de propagación *in vitro*, lo que varía es el método de adaptación a condiciones de invernadero, que comprende la Etapa IV.

ETAPA I. Inicio de cultivo *in vitro* de microesquejes

Se obtienen los microesquejes bajo condiciones asépticas, los propágulos se colocan sobre la superficie del medio de cultivo previamente esterilizado y se trasladan al cuarto de crecimiento por 4 semanas. Las plantas deben ser habituadas a un crecimiento normal, ya que se han mantenido por varios meses con retardantes de crecimiento. El medio de cultivo que se utiliza es Murashige y Skoog (MS).

ETAPA II. Micropropagación (multiplicación masiva)

Se subcultivan las plantas provenientes de los microesquejes, en el medio de multiplicación (MS) hasta alcanzar el volumen de plantas requerido para cada uno de los materiales de papa.

ETAPA III: Enraizamiento *in vitro*

El enraizamiento de las vitroplantas se realiza en el mismo medio de cultivo, sin la adición de fitohormonas sintéticas.

ETAPA IV. Pre-adaptación dentro de los recipientes de cultivo.

La pre-adaptación se realiza con el fin de endurecer las plantitas y lograr una mayor sobrevivencia al transplante. Se colocan los recipientes de cultivo con las vitroplantas, en el invernadero de adaptación bajo una intensidad lumínica aproximada de 6000 Lux por un período de 10 a 12 días.

ETAPA V: Transplante y adaptación a condiciones de invernadero

Esquema del Método 2



Fig. 4. Vitroplantas



Fig. 5. Transplante en bandejas



Fig. 6. Plántulas adaptadas



Fig. 7. "Pilon" de vitroplanta



Fig. 8. Transplante a invernadero definitivo

5.4.3. Método SAH (Sistema Autotrófico Hidropónico)

Como se explicó en el marco teórico, este sistema es un método intermedio entre el cultivo *in vitro* y el cultivo hidropónico. Se partió de plantas cultivadas *in vitro*, de acuerdo con el procedimiento descrito a continuación.

En primer lugar, es conveniente realizar una selección durante la micropropagación para obtener plántulas vigorosas y de buen tamaño de hoja. Se extrae la plántula completa. Se coloca sobre papel húmedo esterilizado o desinfectado. Se realiza el corte de las plantas con bisturí obteniéndose esquejes, deben tener al menos una buena hoja. Se separan en apicales, medios y basales. Estos últimos incluyen parte de las raíces (Rigato 2002).

- **Plantación:** Se plantan 21 esquejes por caja. Se mantienen separados los esquejes apicales, medios y basales para lograr uniformidad en el crecimiento en cada caja. Se realiza un pequeño hoyo en el sustrato con la pinza, se toma el esqueje con la pinza y se planta, se aplica una leve presión.
- **Incubación:** Se colocan a 16 horas luz en cuarto de cultivo a 24 grados centígrados. A los 10 o 15 días estarán para volver a cortar.

- **Multiplicación de caja a caja:** Se eligen y separan las cajas que tienen plántulas con tamaño para cortar. Las plántulas se cortan con bisturí esterilizado, se deja la parte basal, con yema y por lo menos una hoja para que rebrote. Se obtienen esquejes que se dividen por tamaño y se vuelven a plantar en cajitas por separado.
- **En el cuarto de cultivo:** 16 horas luz a 24 grados centígrados, circulación de aire constante, revisión y podas diarias, distancia a luz de 22 cm. Las cajas se mantienen cerradas, se abren 24 horas antes de cortar.

Las plántulas desarrolladas a partir de los esquejes apicales están listas para ser multiplicados entre los 7 y 10 días desde su plantación. Aquellas que se desarrollaron a partir de esquejes medios de dos nudos o uni-nodales podrán multiplicarse alrededor de los 15 días de su plantación, las plantas cortadas rebrotan rápidamente y se pueden volver a podar o plantar.

- **Aclimatación:** Cuando las plántulas tienen un buen sistema radicular y llegan a tocar la tapa, las cajas se llevan al invernadero. Se dejan destapadas, a media sombra. Se riega para mantener húmedo el sustrato hasta el trasplante. Se dejan aclimatar durante 24 – 48 horas, previo a la plantación en el sustrato del invernadero definitivo.

Solución nutritiva A y B: Solución nutritiva A y B (Las soluciones nutritivas contienen los macros y micros nutrientes que la planta requiere para su desarrollo, soluciones que serán utilizadas para humedecer los sustratos y regar) (Rigato 2002) (Ver Anexos 2).

Esquema del Método 3



Fig. 9. Vitroplantas



Fig. 10. Corte de esquejes



Fig. 11. Plantación



Fig. 12. Cuarto de crecimiento



Fig. 13. Invernadero



Fig. 14. Transplante

5.5 Diseño experimental

El diseño experimental fue una distribución en bloques al azar con arreglo factorial

5.6 Tratamientos

Dos factores:

- A. Variedades
- B. Métodos

A. Variedades

Tres variedades o niveles:

1. Loman
2. Ictafrit
3. Tollocan

B. Métodos

Tres métodos o niveles:

1. Transplante directamente de *in vitro*
2. Vitroplantas transplantadas a bandejas múltiples
3. SAH (Sistema Autotrófico Hidropónico)

Se estableció tres (3) repeticiones por tratamiento

5.7 Tamaño de la unidad experimental

La unidad experimental estuvo constituida por 40 plantas.

La parcela bruta PB es igual a 40 plantas y la parcela neta PN es igual a 16 plantas, de las cuales se tomó los datos para el análisis estadístico.

5.8 Modelo Estadístico

$$Y_{klj} = \mu + \alpha_k + \gamma_l + \xi_{kl} + \beta_j + \epsilon_{klj}$$

Y_{klj} = respuesta de la k-ésima repetición en el i-ésimo nivel del factor A y j-ésimo nivel de factor B

μ = media general

α_k = factor A

γ_l = factor B

ξ_{kl} = interacción AB

β_j = efecto del bloque

ϵ_{klj} = error

5.9 Variables de respuesta

- ✓ Porcentaje de sobrevivencia de plántulas (%)
- ✓ Número de tubérculos por planta
- ✓ Tamaño de tubérculos

5.10 Análisis de la información

Análisis estadístico. El análisis de los datos se realizó mediante el programa Infostat. Se hizo un Análisis de Varianza de los datos obtenidos en la investigación, para cada una de las variables con el fin de determinar la significancia estadística entre tratamientos.

Se realizó la prueba de DGC para la comparación de las medias de los datos obtenidos de las variables para cada variedad de papa.

Análisis económico. Se determinó los costos de producción de las plántulas obtenidas en cada uno de los métodos evaluados.

5.11 Manejo del experimento

Se realizó las siguientes actividades en la investigación:

- Prueba de ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay), se realizó a los tres materiales de papa de interés para la investigación. Se determinó la ausencia de los cuatro virus de más importancia en el cultivo de la papa, PVX, PVY, PVS Y PLRV. Se realizó esta prueba antes del cultivo *in vitro* y a los 45 días de establecido el cultivo en el invernadero definitivo.
- Inicio del cultivo *in vitro*: Se partió del material conservado con retardantes del crecimiento en el banco de germoplasma *in vitro* de ICTA-CIALO. Se cultivaron las vitroplantas en el medio nutritivo MS, sin retardantes del crecimiento, para obtener un crecimiento normal de las vitroplantas.
- Micropropagación de las tres variedades de papa. Disección y siembra de las vitroplantas de los materiales de papa, bajo condiciones asépticas, después de la recuperación en el medio de cultivo MS. Se establecieron en el cuarto de crecimiento a una temperatura de $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

Se realizó las siguientes tareas, tanto para el cultivo *in vitro*, como para la micropropagación: Preparación de la cristalería, preparación de soluciones madre

(soluciones concentradas del medio de cultivo MS), formulación del medio de cultivo, distribución y esterilización del medio de cultivo.

- Propagación de plántulas por el sistema SAH. Disección y plantación bajo condiciones de absoluta limpieza de las vitroplantas de los materiales de papa. Se realizó las siguientes tareas: Preparación de soluciones nutritivas, preparación del sustrato, preparación de bandejas, preparación del área de trabajo.
- Crecimiento en el cuarto de crecimiento. Se establecieron las vitroplantas de las tres variedades en el cuarto de crecimiento a una temperatura de $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad.
- Transplante y adaptación a invernadero. De acuerdo con cada método que se evaluó, se procedió a trasplantar y aclimatar a condiciones de invernadero las plántulas de las tres variedades de papa.
- Establecimiento de ensayo a nivel de finca. Preparación del invernadero definitivo. Preparación del sustrato. Desinfección del sustrato. Trazo de surcos. Arreglo espacial para establecer los tratamientos.
- Transplante de las plántulas de las variedades de papa en el invernadero definitivo
- Manejo agronómico. Control de plagas, riego, fertilización, aporque y otras.
- Cosecha. Se realizó manualmente al término de madurez de cada una de las variedades de interés para la investigación.
- Toma de datos. La toma de datos se realizó a lo largo del experimento.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

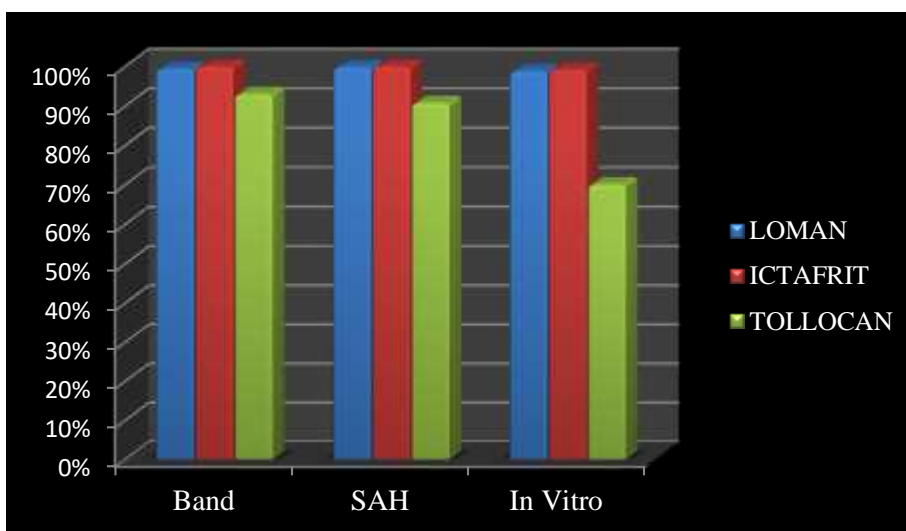
Los objetivos del proyecto se lograron en su totalidad, ya que, se realizó todas las actividades planteadas en la investigación. A continuación se expone los resultados obtenidos para cada una de las variables estudiadas.

6.1 Variable Sobrevivencia

Dentro de los resultados obtenidos, se logró más del 98% de sobrevivencia y desarrollo de las plántulas de las variedades Loman e Ictafrit, en cualquiera de los métodos evaluados, sin embargo, la variedad Tollocan presentó una sobrevivencia ligeramente inferior para los métodos Bandeja y SAH. En el caso del método In vitro la sobrevivencia fue considerablemente menor, para la variedad Tollocan, logrando únicamente un 70% en comparación con los otros métodos (Figura 15). De acuerdo con Pierik (1990), se sabe que las vitroplantas tienen la cutícula escasamente desarrollada debido a la alta humedad relativa, 90-100%, que se da *in vitro*. Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones in vivo es más baja. También se ha observado, que en las plantas provenientes del cultivo de tejidos, la conducción de agua entre vástagos y raíces puede verse reducida por una pobre conexión vascular.

De acuerdo con la metodología de esta investigación, se realizó un pre-adaptación de las vitroplantas de las tres variedades, dentro de los recipientes de cultivo, para el método In vitro, con el fin de endurecer las plantitas y lograr una mayor sobrevivencia al trasplante. En la variedad Tollocan, se hizo evidente que fue más difícil la sobrevivencia de las vitroplantas en el invernadero definitivo; este resultado es consistente con la investigación realizada por Alonzo (2018), quien obtuvo un 64 % de sobrevivencia para la variedad Tollocan, con el mejor tratamiento de período de adaptación e intensidad lumínica (similar a las condiciones de iluminación y tiempo utilizadas en este estudio) del experimento establecido en la estación experimental de ICTA-CIALO, Labor Ovalle, Quetzaltenango.

En otras investigaciones realizadas, se ha evidenciado que, el genotipo también es determinante en la capacidad de adaptación y sobrevivencia de las vitroplantas a las condiciones *in vivo*, ya que, se observó un porcentaje superior de sobrevivencia de las variedades Loman e Ictafrit, en los resultados de este experimento (Figura 15). Las condiciones de crecimiento que determinan plantas más vigorosas, así como, la producción de mini-tubérculos, se sabe que están determinadas por el genotipo (Sharma 2013).



Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Figura 15. Porcentajes de sobrevivencia de plántulas de tres variedades de papa bajo diferentes métodos de propagación.

6.2 Variable número de tubérculos

En el cuadro 1, se presenta el número promedio de tubérculo-semilla obtenido por planta en cada método evaluado para las variedades Loman, Ictafrit y Tollocan. Para la variedad Loman el número de tubérculos por plantas es mayor para el método Bandeja que para los otros dos tratamientos. En el caso de la variedad Ictafrit el número de tubérculos por planta es similar entre el método Bandeja y el método SAH, este número es ligeramente inferior en el tratamiento In vitro, sin embargo, no existe diferencia estadística significativa entre los 3 métodos evaluados, para esta variable. Para la variedad Tollocan, se determinó un número mayor de tubérculos por planta con el método Bandeja.

La producción de mini-tubérculos se encuentra afectada por el genotipo. Los cultivares difieren ampliamente en su capacidad de producir tubérculos, algunos son más prolíficos que

otros. Se ha reportado hasta una diferencia, de hasta diez veces, en el rendimiento de mini-tubérculos entre la variedad más rendidora y la menos rendidora. Se ha encontrado grandes diferencias en el comportamiento de los cultivares dependiendo del método utilizado para producir el tubérculo- semilla de papa (Sharma 2013).

Cuadro 1. Número promedio de tubérculo-semilla obtenido por planta en cada método evaluado para las variedades Loman, Ictafrit y Tollocan

Variedad	Método	No. tubérculos /planta
Loman	Bandeja	16.42
	SAH	14.37
	In vitro	14.68
Ictafrit	Bandeja	13.27
	SAH	13.56
	In vitro	12.55
Tollocan	Bandeja	7.99
	SAH	7.58
	In vitro	6.67

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

En el cuadro 2, se presenta el Análisis de varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Loman. No se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos, es decir que, se obtuvo una respuesta similar en número de tubérculos con cualquiera de los métodos evaluados: Bandeja, SAH e In vitro.

Cuadro 2. Análisis de Varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Loman

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	6.98	2	3.49	1.08	0.4223
REPETICION	2.59	2	1.29	0.40	0.6948
Error	12.95	4	3.24		
Total	22.52		8		
CV= 11.87					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

En el cuadro 3, se presenta el Análisis de varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Ictafrit. Al igual que para la variedad Loman, no se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos, por lo que, se obtuvo una respuesta similar en número de tubérculos con cualquiera de los métodos evaluados: Bandeja, SAH e In vitro.

Cuadro 3. Análisis de Varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Ictafrit

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	1.70	2	0.85	1.19	0.3932
REPETICION	19.43	2	9.71	13.63	0.0164
Error	2.85	4	0.71		
Total	23.98	8			
CV=6.43					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

En el cuadro 4, se presenta el Análisis de varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Tollocan. Se determinó que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos, por lo que, se procedió a realizar una prueba de significancia entre tratamientos (Cuadro 5), mediante la prueba DGC. Se observa que el tratamiento Bandeja fue estadísticamente superior a los otros tratamientos y el método SAH fue estadísticamente superior al método In vitro. Con los métodos Bandeja y SAH, se obtuvo un mayor número de tubérculos por planta a diferencia del método In vitro, con el que se obtuvo un menor número de tubérculos. De acuerdo con la literatura consultada, a las plantas in vitro se les debería dar un cierto tiempo para acostumbrarse a las condiciones *in vivo* y/o permitirles aclimatarse *in vitro* de manera que queden endurecidas para afrontar el nuevo ambiente (Pierik 1990), esta adaptación se realizó con las vitroplantas del tratamiento in vitro, ya que se les dejó en los recipientes de cultivo por un período de 12 días, bajo una iluminación de 6,000 Lux, después de ese tiempo fueron plantadas al invernadero definitivo.

Es importante señalar que con los métodos Bandeja y SAH se establecen en sustrato sólido las vitroplantas por un período mínimo de 2 semanas, bajo condiciones de invernadero, lo que conlleva que, cuando las plántulas se establecen en el invernadero definitivo llevan 2 semanas más de adaptación a condiciones naturales, por ende de desarrollo, en comparación con las vitroplantas que se establecen directamente del recipiente de cultivo al invernadero definitivo sin previo trasplante a sustrato sólido. De acuerdo con los resultados obtenidos el trasplante a sustrato sólido hace una gran diferencia sobre el número de tubérculos que se obtiene por planta.

Cuadro 4. Análisis de Varianza para la variable Número de tubérculos de la variedad Tollocan

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	2.78	2	1.39	42.34	0.0020
REPETICIÓN	2.72	2	1.36	41.53	0.0021
Error	0.13	4	0.03		
Total	5.63	8			
CV = 2.44					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Cuadro 5. Comparación de medias por la prueba DGC para la variable Número de tubérculos de la variedad Tollocan

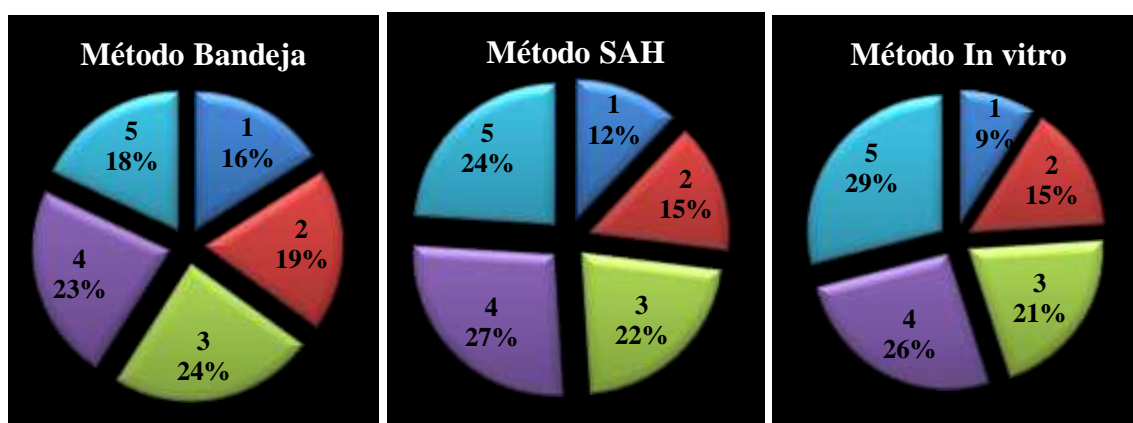
MÉTODO	Medias			
BAN	8.00	A		
SAH	7.57		B	
IN VIT	6.67			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Respecto al tubérculo-semilla clasificado por categoría para cada variedad evaluada, se utilizó la escala del Centro Internacional de la Papa –CIP– (Anexo 3). Esta escala establece cinco categorías de mini-tubérculos; de primera a quinta de acuerdo con el tamaño del tubérculo. En general, se pudo observar un mayor número de tubérculos con el método de Bandeja, seguido del método *In vitro* y después el método SAH, sin embargo con el método bandeja al igual que para SAH se obtuvo un mayor número de tubérculos de las categorías primera a cuarta en comparación con el método *In vitro*, que tuvo un menor número de tubérculos en estas categorías pero superó a los otro dos métodos en la categoría quinta, que corresponde a los tubérculos de menor tamaño (tubérculos con peso menor a 2 gramos). Figuras 16, 17 y 18.

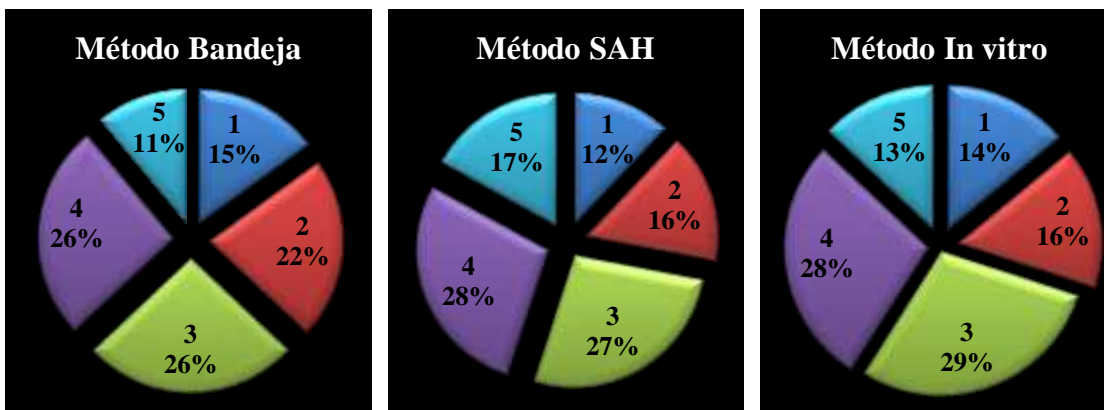
Se observa en la figura 16, que para la variedad Loman, de las categorías 2 a la 4 se obtuvo el mayor porcentaje de tubérculos, 62%, 64% y 62%, para los métodos Bandeja, SAH e In vitro, respectivamente. Estas categorías son las que se aconseja sembrar de acuerdo con el Centro Internacional de la Papa –CIP– por su peso y tamaño. Con el método In vitro, se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos de la categoría 5, tubérculos muy pequeños (con peso menor a 2 gramos) que no se aconseja sembrar para la producción de semilla registrada ya que durante el proceso de dormancia y brotación pierden mucho peso, algunas veces desecándose completamente.



Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Figura 16. Porcentajes de tubérculo-semilla de papa variedad Loman obtenidos por categoría bajo los métodos Bandeja, SAH e In vitro

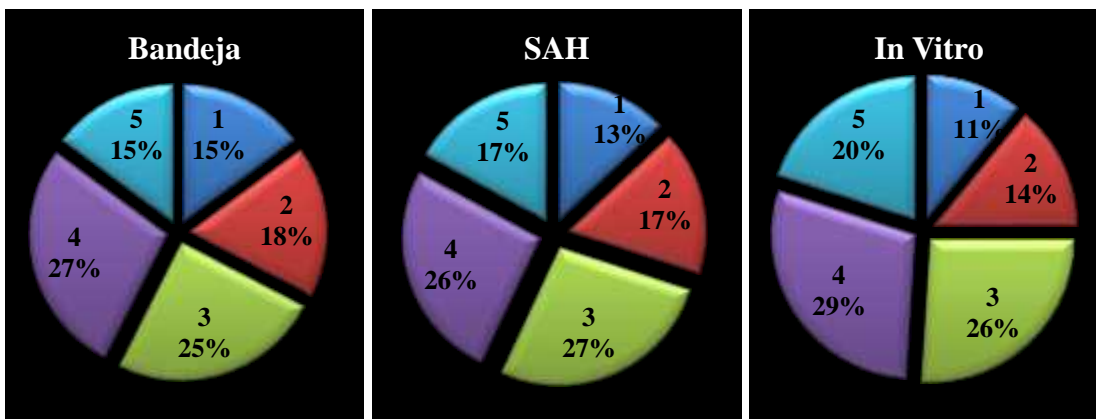
En la Figura 17, se presenta el porcentaje de tubérculo-semilla obtenido por categoría en cada método de propagación de la variedad Ictafrit. De acuerdo con la clasificación CIP, se pudo observar un mayor porcentaje de tubérculos, en comparación con la variedad Loman, de las categoría 2 a la 4, 74%, 71% y 73%, para los métodos Bandeja, SAH e In vitro, respectivamente. De la categoría 5, se obtuvo con los 3 métodos un porcentaje más bajo de tubérculos, incluso para el método In vitro, en comparación con la variedad Loman.



Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Figura 17. Porcentajes de tubérculo-semilla de papa variedad Ictafrit obtenidos por categoría bajo los método Bandeja, SAH e In vitro

En el Figura 18, se presenta el porcentaje de tubérculo-semilla clasificado por categoría, que se obtuvo en cada método de propagación de la variedad Tollocan. De las cinco categorías las establecidas en la escala CIP, se pudo observar, al igual que para la variedad Ictafrit, un mayor porcentaje de tubérculos, de las categorías 2 a la 4, y en la categoría 5 el porcentaje más bajo de tubérculos en comparación con las otras dos variedades evaluadas.



Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Figura 18. Porcentajes de tubérculo-semilla de papa variedad Tollocan obtenidos por categoría bajo los método Bandeja, SAH e In vitro

6.3 Variable Peso de Tubérculo

En el cuadro 6, se presenta el Análisis de varianza para la variable Peso de tubérculo de la variedad Loman. Se determinó que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos, por lo que, se procedió a realizar una prueba de significancia entre tratamientos (Cuadro 7), mediante la prueba DGC. Se puede observar que el tratamiento Bandeja (BAN) fue superior a los otros tratamientos, constituyendo un grupo por separado (A). Es importante indicar que, con los tratamientos SAH e In vitro, se observó la producción de un mayor número de tubérculos de la categoría 5 (Figura 16), este resultado incidió directamente sobre el peso general de tubérculos, ya que, aunque no se encontró diferencia estadística significativa para la variable Número de Tubérculos, con cualquiera de los métodos evaluados, para la variable Peso de tubérculo sí, porque para los métodos SAH e In vitro, se obtuvo un gran porcentaje de tubérculos de la categoría 5, que, aunque se obtuvieron en mayor cantidad, los mismos son de bajo peso y esto afectó el resultado del análisis estadístico de la variable estudiada.

Cuadro 6. Análisis de Varianza para la variable Peso de tubérculos de la variedad Loman

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	18962.84	2	9481.42	6.26	0.0586
REPETICION	608.82	2	304.41	0.20	0.8256
Error	6054.31	4	1513.58		
Total	25625.97	8			
CV=16.09					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Cuadro 7. Comparación de medias por la prueba DGC para la variable Peso de tubérculos de la variedad Loman

MÉTODO	Medias		
BAN	305.63	A	
SAH	220.10		B
IN VIT	199.67		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

En el Cuadro 8, se presenta el Análisis de varianza para la variable Peso de tubérculos de la variedad Ictafrit. A diferencia de la variedad Loman, no se encontró diferencia estadística significativa entre tratamientos, por lo que, se obtuvo una respuesta similar en la variable Peso de tubérculos con cualquiera de los métodos evaluados: Bandeja, SAH e In vitro.

Cuadro 8. Análisis de Varianza para la variable Peso de tubérculos de la variedad Ictafrit

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	49.20	2	4.60	0.03	0.0096
REPETICION	11536.50	2	5768.25	7.79	0.0417
Error	2961.74	4	740.44		
Total	14547.44	8			
CV = 7.78					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

En el cuadro 9, se presenta el Análisis de varianza para la variable Peso de tubérculo de la variedad Tollocan. Se determinó que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos, por lo que, se procedió a realizar una prueba de significancia entre tratamientos (Cuadro 10), mediante la prueba DGC. Se puede observar que el tratamiento Bandeja (BAN) fue superior a los otros tratamientos, constituyendo un grupo por separado (A).

Cuadro 9. Análisis de Varianza para la variable Peso de tubérculos de la variedad Tollocan

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	2371.71	2	1185.85	5.96	0.00631
REPETICION	2452.57	2	1226.28	6.16	0.0600
Error	795.94	4	198.99		
Total	5620.22	8			
CV = 8.43					

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

Cuadro 10. Comparación de medias por la prueba DGC para la variable Peso de tubérculos de la variedad Tollocan

MÉTODO	Medias		
BAN	187.81	3	A
SAH	166.28	3	B
IN VIT	148.10	3	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Proyecto CRIA/Laboratorio de Biotecnología, ICTA, Quetzaltenango. 2018

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de las variables de esta investigación, es necesario tomar en cuenta que, las plántulas del tratamiento In vitro, tienen un menor tiempo de desarrollo en comparación con las plántulas del tratamiento Bandeja que pasan por una pre-adaptación por un período de 2 semanas, esto conlleva una mejor adaptación y desarrollo en el invernadero definitivo. Esta es una condición relacionada también con el genotipo, ya que, la variedad Loman presentó con más frecuencia una mayor producción de tubérculos de menor tamaño, en comparación con las otras 2 variedades.

Las condiciones de crecimiento que determinan la producción de mini-tubérculos, se sabe que están determinadas por el genotipo. Se ha encontrado una variación significativa entre cultivares en características tales como, número de entrenudos, longitud de entrenudos y longitud de plántulas durante la micropropagación de papa, lo que representa también variaciones en la producción de tubérculos. La interacción genotipo x ambiente es bien sabido que es importante sobre la características cuantitativas tanto en el cultivo *in vitro* como *in vivo* (Sharma 2013).

6.4 Análisis Económico

En los cuadros 11, 12, y 13 se presentan los costos de producción de las plántulas de papa, correspondientes a los tres métodos evaluados en esta investigación. El costo unitario por plántula es de Q. 2.36, para el método bandeja múltiple; Q. 2.21, para el método SAH; y Q.2.12, para el método *in vitro*. La diferencia en costo se encuentra en los renglones correspondientes al uso de bandeja y sustrato, también el costo de mantenimiento de las plántulas durante la adaptación a invernadero, para los métodos bandeja y SAH, y al utilizar bandeja y sustrato estos costos se eliminan para el método *in vitro*.

Es importante señalar que, aunque el costo por plántula sea menor en el caso del método *in vitro*, de acuerdo con los resultados de la presente investigación, se obtuvo, en general, un número menor de tubérculos con este método (Cuadro 1), además se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos en la categoría 5, esta categoría corresponde a tubérculos menores de 2 gramos (Figuras 16, 17 y 18). De acuerdo con la clasificación del CIP, la categoría 5 no es apta para ser utilizada para la siembra porque su tamaño muy pequeño causa una rápida deshidratación de los tubérculos durante el proceso de dormancia por lo que se recomienda la siembra de tubérculos de mayor tamaño (categoría 2 a 4). Sin embargo, se sabe que los productores de semilla de papa más experimentados son capaces de sembrar y manejar adecuadamente este tipo de semilla, bajo condiciones de invernadero, para la producción de semilla de categoría registrada.

Cuadro 11. Costo de producción de plántulas de tres variedades de papa por el método Bandeja

COSTO DE PRODUCCION DE PLANTAS DE PAPA POR EL MÉTODO BANDEJA						
En Quetzales						
Lote de producción: 6000 plantas						
Año: 2018						
Ubicación: Laboratorio de Biotecnología, ICTA-CIALO, Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango						
Renglón	Descripción	Número Unidades	Unidad Medida	Valor Unidad	Sub-total	Costo Total
A	Costos Directos			Q.	Q.	Q.
	Mano de obra					
0	Servicios personales					
035	Mano de obra a destajo					
35	Preparación, distribución y esterilización de los medios de cultivo	6	Tareas	100.00	600.00	600.00
035	Cultivo in vitro: aislamiento de meristemos, subcultivos, cortes de microesquejes.	6	Tareas	100.00	600.00	600.00
035	Micropropagación, lavado y esterilización de cristalería	5	Tareas	100.00	500.00	500.00
035	Transplante a sustrato y cuidados culturales en invernadero (adaptación de vitroplantas)	5	Tareas	100.00	500.00	500.00
I	Total mano de obra					2200.00
	Insumos					
214	Productos agroforestales					
	Pacas de peat moss	1	pacas	350.00	350.00	350.00
261	Elementos y compuestos químicos				3000.00	3000.00
266	Productos medicinales y farmacéuticos				2800.00	2800.00
	Kits de Elisa					
II	Total insumos					6150.00
11	Servicios					
111	Energía Eléctrica				4860.00	4860.00
III	Total servicios					4860.00
IV (I+II+III)	Total Costos Directos					13210.00
B	Costos Indirectos					
035	Mano de obra a destajo					
035	Limpieza laboratorio	2	Tareas	100.00	200.00	200.00
2	Materiales y suministros					
298	Bandejas para trasplante	12	Bandejas	25.00	300.00	300.00
243	Productos de papel o cartón				50.00	50.00
292	Útiles de limpieza y productos sanitarios				75.00	75.00
295	Útiles menores médico quirúrgicos y de laboratorio				150.00	150.00
297	Útiles, accesorios y materiales eléctricos				100.00	100.00
241	Papel de escritorio	0.5	Resma	40.00	20.00	20.00
291	Útiles de oficina (Marcadores)	1	Unidades	15.00	15.00	15.00
11	Servicios					
112	Agua Potable				50.00	50.00
V	Total Costos Indirectos					960.00
VI (IV+V)	Costo Total					14170.00
	Costo Total					14170.00
	Número de plantas in vitro producidas					6000
	Costo unitario en quetzales por planta					2.36

Cuadro 12. Costo de producción de plántulas de tres variedades de papa por el método SAH

COSTO DE PRODUCCION DE PLANTAS DE PAPA POR EL MÉTODO -SAH-						
En Quetzales						
Lote de producción: 6000 plantas						
Año: 2018						
Ubicación: Laboratorio de Biotecnología, ICTA-CIALO, Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango						
Renglón	Descripción	Número Unidades	Unidad Medida	Valor Unidad	Sub-total	Costo Total
A	Costos Directos			Q.	Q.	Q.
	Mano de obra					
0	Servicios personales					
035	Mano de obra a destajo					
35	Preparación, distribución y esterilización de los medios de cultivo	2	Tareas	100.00	200.00	200.00
035	Cultivo in vitro: aislamiento de meristemos, subcultivos, cortes de microesquejes (Micropropagación)	10	Tareas	100.00	1000.00	1000.00
035	Lavado y esterilización de cristalería y bandejas	5	Tareas	100.00	500.00	500.00
	Cultivo SAH - Preparación de bandejas, preparación de sustrato, corte y siembra de esquejes.	5	Tareas	100.00	500.00	500.00
035	Cultivo SAH - Mantenimiento en cuarto de crecimiento y adaptación en invernadero	5	Tareas	100.00	500.00	500.00
I	Total mano de obra					2700.00
	Insumos					
214	Productos agroforestales					
	Pacas de peat moss	2.5	pacas	350.00	875.00	875.00
261	Elementos y compuestos químicos				1500.00	1500.00
266	Productos medicinales y farmacéuticos					
	Kits de Elisa				2800.00	2800.00
II	Total insumos					5175.00
11	Servicios					
111	Energía Eléctrica				4130.00	4130.00
III	Total servicios					4130.00
V(I+II+III)	Total Costos Directos					12005.00
B	Costos Indirectos					
035	Mano de obra a destajo					
035	Limpieza laboratorio	2	Tareas	100.00	200.00	200.00
2	Materiales y suministros					
298	Bandejas	286	Bandejas	2.00	572.00	572.00
243	Productos de papel o cartón				50.00	50.00
292	Útiles de limpieza y productos sanitarios				75.00	75.00
295	Útiles menores medico quirúrgicos y de laboratorio				150.00	150.00
297	Útiles, accesorios y materiales eléctricos				100.00	100.00
241	Papel de escritorio	0.5	Resma	40.00	20.00	20.00
291	Útiles de oficina (Marcadores)	2	Unidades	15.00	30.00	30.00
11	Servicios					
112	Agua Potable				50.00	50.00
V	Total Costos Indirectos					1247.00
VI (IV+V)	Costo Total					13252.00
	Costo Total					13252.00
	Número de plantas in vitro producidas					6000
	Costo unitario en quetzales por planta					2.21

Cuadro 13. Costo de producción de plántulas de tres variedades de papa por el método *IN VITRO*

COSTO DE PRODUCCION DE PLANTAS DE PAPA POR EL MÉTODO <i>IN VITRO</i>						
En Quetzales						
Lote de producción: 6000 plantas						
Año: 2018						
Ubicación: Laboratorio de Biotecnología, ICTA-CIALO, Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango						
Renglón	Descripción	Número Unidades	Unidad Medida	Valor Unidad	Sub-total	Costo Total
A	Costos Directos			Q.	Q.	Q.
	Mano de obra					
0	Servicios personales					
035	Mano de obra a destajo					
035	Preparación, distribución y esterilización de los medios de cultivo	6.25	Tareas	100.00	625.00	625.00
035	Cultivo in vitro: aislamiento de meristemos, subcultivos, cortes de microesquejes, micropropagación, lavado y esterilización de cristalería	25	Tareas	100.00	2500.00	2500.00
35		5	Tareas	100.00	500.00	500.00
I	Total mano de obra					3625.00
	Insumos					
261	Elementos y compuestos químicos				1000.00	1000.00
266	Productos medicinales y farmacéuticos				2800.00	2800.00
	Kits de Elisa					
II	Total insumos					3800.00
11	Servicios					
111	Energía Eléctrica				4640.00	4640.00
III	Total servicios					4640.00
V(I+II+III)	Total Costos Directos					12065.00
B	Costos Indirectos					
035	Mano de obra a destajo					
035	Limpieza laboratorio	2	Tareas	100.00	200.00	200.00
2	Materiales y suministros					
243	Productos de papel o cartón				50.00	50.00
292	Útiles de limpieza y productos sanitarios				75.00	75.00
295	Útiles menores médico quirúrgicos y de laboratorio				100.00	100.00
297	Útiles, accesorios y materiales eléctricos				100.00	100.00
241	Papel de escritorio	0.5	Resma	40.00	20.00	20.00
291	Útiles de oficina (Marcadores)	2	Unidades	15.00	30.00	30.00
11	Servicios					
112	Agua Potable				50.00	50.00
V	Total Costos Indirectos					625.00
VI (IV+V)	Costo Total					12690.00
	Costo Total					12690.00
	Número de plantas In vitro producidas					6000.00
	Costo unitario en quetzales por planta					2.12

7. CONCLUSIONES

1. Ninguno de los métodos de propagación y adaptación evaluados presentó diferencia estadística significativa sobre la variable sobrevivencia de las plántulas de papa de las variedades Loman e Ictafrit.
2. Los métodos de propagación y adaptación de Bandeja y SAH presentaron un 93% y 91% de sobrevivencia de plántulas de la variedad Tollocan, respectivamente, en comparación con un 70% del método In vitro, por lo que se encontró diferencia estadística significativa para esta variable.
3. Ninguno de los métodos de propagación y adaptación evaluados presentó diferencia estadística significativa para la variable Número de tubérculos por planta en las variedades de papa Loman e Ictafrit.
4. Se encontró diferencia estadística significativa para la variable Número de tubérculos en la variedad Tollocan, entre los tres métodos evaluados; Bandeja, SAH e In vitro, que presentaron 8.00, 7.57 y 6.67 tubérculos por planta, respectivamente.
5. Se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de tubérculo de las variedades Loman y Tollocan, el mejor tratamiento fue el método Bandeja en comparación con los métodos SAH e In vitro.
6. No se encontró diferencia estadística significativa para la variable Peso de tubérculo de la variedad Ictafrit en ninguno de los métodos evaluados.
7. Para la variedad Loman, con el método In vitro, se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos en la categoría quinta (peso menor de 2 gramos), que corresponde a los tubérculos de menor tamaño en comparación con los métodos Bandeja y SAH.
8. Para la variedades Ictafrit y Tollocan se obtuvo un mayor porcentaje de tubérculos de las categorías primera a cuarta (peso mayor de 2 gramos) que, de la categoría quinta (peso menor de 2 gramos), en los tres métodos evaluados.

8. RECOMENDACIONES

1. Dar a conocer los resultados de esta investigación a los actores de la Agro-Cadena de la papa.
2. Validar los resultados de esta investigación en ambientes diferentes con productores de semilla de papa de otros departamentos de Guatemala.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adames, M. 1999. Efecto del tamaño del minitubérculo de papa (*Solanum tuberosum* L.) de segunda generación, var. Atlantic, en el rendimiento de minitubérculo de tercera generación bajo microtúneles. Tesis Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 88 p.
- Alonzo, Y. 2018. Adaptación de métodos de aclimatación de vitroplantas de dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con fines de producción de semilla de alta calidad fitosanitaria. Informe preliminar para Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de San Carlos de Guatemala/Centro Universitario de Occidente. Quetzaltenango, Guatemala. 60 p.
- Chávez, G. 2010. Manual para la Producción de Papa. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA-. Guatemala. 23 p.
- FAO (Food Agricultural Organization, Italia). 1995. La papa en la década de 1990. Situación y perspectivas de la economía de la papa a nivel mundial. Roma, Italia. 22 p.
- FAOSTAT (Food Agricultural Organization Statistics). 2012. Food and agricultural commodities production. Consultado 16 de junio de 2014. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Flores, D; Brenes J. 2002. Producción en invernadero de semilla de papa a partir de vitroplantas. Serie Informativa Tecnología Apropriada No. 26. CIT-TEC. 13 p.
- Huarte, M; Capezio, S. 2013. Docentes investigadores. Asignatura: Cultivo de Papa. Unidad integrada. INTAFCA. UNMdP. Balcarce, Argentina.
- Hurtado, DV; Merino ME. 1994. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. México. 232 p.
- ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Guatemala). 1997. Informe Final Guatemala: ICTA-JOCV 1995-1997. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA– y Voluntarios Japoneses en Cooperación Técnica con el Extranjero –JOVC–. Guatemala. 83 p.
- ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Guatemala). 2004. Informe Anual de la Disciplina de Biotecnología. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA– Guatemala.
- ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Guatemala). 2012. Informe Anual de la Disciplina de Biotecnología. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA–. Guatemala.

- ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Guatemala). 2013. Informe Anual de la Disciplina de Biotecnología. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas–ICTA–. Guatemala.
- INE (Instituto Nacional de Estadística, Guatemala). 2003. IV censo nacional agropecuario. Realizado por el Instituto Nacional de Estadística -INE-, para el año agrícola 2002-2003.
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2002. Sistema de producción de plántulas de papa rustificadas para la obtención de semilla pre básica. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala). 2002. Unidad de normas y regulaciones: sistema de vigilancia fitosanitaria. Documento 1, serie normativa. Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación –MAGA-. 2 ed. Guatemala. 45 p.
- Mejía, G. 2006. Costos de producción de plántulas de papa in vitro. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA–. Guatemala. 4 p.
- Maraima R. 2009. Producción de semilla de papa. Campo Experimental Mucuchíes en Mérida. FreshPlaza: Noticias del sector de frutas y verduras. Venezuela.
- Ojeda, M. et al. 2014. Evaluación del crecimiento de las vitroplantas y la microtuberización de dos materiales de papa. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2014, Supl. 1: 191-202.
- Pérez, JN. 1998. Propagación y mejora genética de plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Cuba. 390 p.
- Pierik, RLM. 1990. Cultivo In vitro de las Plantas Superiores. Martinus Nijhoff Publishers. España. 326 p.
- Red Nacional de Grupos Gestores. 2016. Taller con Actores Locales: Identificación de puntos críticos en la agrocadena de la papa. Componente I, Fortalecimiento de las Capacidades de los Consorcios de Actores Locales, para Gestionar y Participar en Investigación Aplicada en las Cadenas Priorizadas por Región. Guatemala. 7 p.
- Rigato, S; González A; Huarte M. 2002. Producción de plántulas por Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH): Producción de plántulas autotróficas por sistema hidropónico de alta sanidad. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. (En línea). Consultado el 24 de enero de 2014. Disponible en: [http:// INTA Balcarce - Grupo Papa - Sistema autotrófico hidropónico.mht](http://INTA Balcarce - Grupo Papa - Sistema autotrófico hidropónico.mht)
- Rigato, S; González A; Huarte M. 2002. Producción de plántulas por Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH): Beneficios del sistema. Producción de plántulas por Sistema Autotrófico Hidropónico (SAH), Balcarce, Buenos Aires, Argentina. (En línea). Consultado el 24 de enero de 2014. Disponible en: [http:// INTA Balcarce - Grupo Papa - Sistema autotrófico hidropónico.mht](http://INTA Balcarce - Grupo Papa - Sistema autotrófico hidropónico.mht)

Salazar, LF. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa -CIP-.
Lima, Perú. 226 p

Sharma, A; Pandey, K. 2013. Potato mini-tuber production through direct transplanting of *in vitro* plantlets in green or screen houses – a review. Potato J (2013) 40 (2): 95-103

Anexos

Anexo 1

Glosario

Aclimatación: Adaptación. Es el proceso por el cual un organismo se adapta fisiológicamente a los cambios en su medio ambiente, que en general tienen relación directa con el clima. Se suele usar este término para referirse a procesos que ocurren durante un período de tiempo corto, como la vida de un organismo individual o grupo.

Asepsia: Es la condición libre de microorganismos que producen enfermedades o infecciones.

Autotrofia: Capacidad de un organismo de sintetizar sus metabolitos esenciales a partir de sustancias inorgánicas. El término autótrofo procede del griego y significa que se alimenta por sí mismo. La autotrófica es el proceso por medio del cual los organismos autótrofos producen su masa celular y materia orgánica, a partir del dióxido de carbono, que es inorgánico, como única fuente de carbono, usando la luz o sustancias químicas como fuente de energía. Las plantas y otros organismos que usan la fotosíntesis son fotolitoautótrofos.

Cultivo aséptico: Debido a que las células vegetales presentan largos tiempos de duplicación comparadas con las células microbianas, se hace necesario mantener los cultivos exentos de contaminación por microorganismos.

Cultivo *in vitro*: *In vitro* (Latín: dentro del vidrio) se refiere al cultivo aséptico de células, tejidos y órganos vegetales dentro de recipientes de cultivo, con un medio nutritivo y bajo condiciones artificiales de luz, fotoperiodo y temperatura.

Entrenudo: Parte del tallo de algunas plantas comprendida entre dos nudos.

Esquejes: Son fragmentos de plantas separados con una finalidad reproductiva. Pueden cortarse fragmentos de tallo e introducirlos en la tierra, para producir raíces. Las plantas enraizadas de esta manera serán idénticas a sus progenitoras, es decir, formarán con ellas un clon.

Explante: Son las yemas de una planta, y son aquellas que al crecer dan lugar a una rama, o si es una yema apical produce el crecimiento en altura de la planta. Tienen la característica que al ser sembradas en un medio de cultivo van a dar lugar a una planta completa con mayor rapidez que otro tipo de tejido.

Esterilización: Proceso de eliminación de toda forma de vida, incluidas las esporas. Es un término absoluto que implica pérdida de la viabilidad o eliminación de todos los microorganismos contenidos en un objeto o sustancia, acondicionado de tal modo que impida su posterior contaminación.

Heterotrofia: La heterotrofia es la capacidad de los animales, los hongos, y la mayoría de bacterias y protozoos, aprovechan la energía y la de la materia que contienen los organismos autótrofos, para fabricar moléculas orgánicas complejas. Los heterótrofos obtienen la energía rompiendo las moléculas de los seres autótrofos que han comido.

Medio de cultivo: Combinación sólida o líquida de nutrientes y agua. Usualmente incluye sales inorgánicas, carbohidratos y vitaminas y aminoácidos. A menudo se denomina Medio Basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y ocasionalmente con otras sustancias varias.

Meristemo: Región donde ocurre la mitosis, un tipo de división celular por la cual de una célula inicial se forman dos células hijas, con las mismas características y número cromosómico que la original. El meristemo es una porción de la yema que no se encuentra vascularizado, sin embargo, contiene numerosas células en continua multiplicación, las cuales si son extraídas y colocadas en un medio de cultivo adecuado, producirán una planta.

Micropropagación: Conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas asexualmente en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades. La micropropagación se utiliza para multiplicar o propagar plantas nuevas

Microtubérculo: Tubérculo-semilla multiplicado, mantenido y comercializado “in vitro”.

Minitubérculo: Tubérculo-semilla obtenido bajo condiciones controladas “ex vitro”.

Multiplicación ex vitro: Multiplicación realizada en sustrato inerte o preventivamente desinfectado, bajo condiciones controladas que permitan la exclusión de vectores y plagas.

Propágulo: Son una modalidad de reproducción asexual en vegetales, por la que se obtienen nuevas plantas y órganos individualizados.

Sustrato: Es todo material sólido distinto del suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular de la planta, desempeñando, por tanto, un papel de soporte para la planta. El sustrato puede intervenir o no en el complejo proceso de la nutrición mineral de la planta.

Tubérculo: tallo subterráneo engrosado que sirve para almacenar sustancias de reserva, como la papa

Tubérculo-semilla: Tubérculo destinado a la plantación, no a la alimentación.

Anexo 2

Ficha Presupuestaria

DESCRIPCION DEL PRESUPUESTO					
	DESCRIPCION	MONTO	Monto	Monto	Saldo
Codigo	Nombre	Programado	Ejecutado	Disponible	
Monto Total del Proyecto		Q123,478			
300 CAPACITACION Y EVENTOS TECNICOS					
307	Organización de Eventos	3,000.00		3,000.00	120,478.00
400 VIAJES OFICIALES					
407	Viaticos Nacionales	14,814.00		14,814.00	108,664.00
409	Transporte Nacionales			0.00	108,664.00
411	Otros Gastos de Viajes Nacionales			0.00	108,664.00
500 DOCUMENTOS Y MATERIALES E INSUMOS					
501	Publicaciones			0.00	108,664.00
503	Reproduccion de Documentos Impresos y Electronicos	2,000.00		2,000.00	106,664.00
505	Material e Insumos: Azúcar blanca, peat moss, toalla de papel, bandejas de plástico, útiles y productos de limpieza	4,628.00		4,628.00	102,036.00
509	Fertilizantes, pesticidas, cristalería, útiles menores de laboratorio, agar, alcohol, útiles y accesorios eléctricos	23,500.00		23,500.00	78,536.00
511	Adquisición de Libros y Otras Publicaciones			0.00	78,536.00
513	Información Especializada			0.00	78,536.00
515	Servicios de Edición, Traducción e Interpretación			0.00	78,536.00
600 PLANTA, EQUIPO Y MOBILIARIO					
611	Equipo y Mobiliario			0.00	78,536.00
700 SERVICIOS GENERALES					
701				0.00	78,536.00
703	Telecomunicaciones y Enlaces de Internet	1,800.00		1,800.00	76,736.00
709	Combustibles	4,000.00		4,000.00	72,736.00
719	Mantenimiento y reparación de equipo de laboratorio	20,690.00		20,690.00	52,046.00
711	Mensajería y Mobilización Local	900.00		900.00	51,146.00
JORNALES					
729	Jornales (Mano de Obra)	35,000.00		35,000.00	16,146.00
INCENTIVOS					
823	Investigador Principal			0.00	16,146.00
	Investigador Asociado			0.00	16,146.00
	Investigador Auxiliar	16,146.00		16,146.00	0.00
OTROS					
	Otros				
	TOTAL	123,478.00	0.00	123,478.00	0.00

Anexo 3

Procedimiento y materiales para la producción de plántulas a través del Sistema Autotrófico Hidropónico –SAH– (Rigato, 2002).

- **Sustrato:** Composición: Poma + peat moss (50% + 50%), Peat moss (fórmula con vermiculita). Los sustratos deben estar libres de patógenos, pasteurizados, y se deben guardar en bolsas cerradas, en lugar limpio y seco. Se cubre la base de la caja (4 cm) con el sustrato a utilizar. Se riega con solución nutritiva y se deja reposar durante 10 minutos hasta que se absorba. Antes de plantar se compacta con la mano el llenado de las cajas.
- **Contenedores:** Cajas de polipropileno con tapa de 14 x 10 x 4 cm, las tapas de las cajas se perforan haciendo tres orificios en cada extremo para permitir el intercambio gaseoso.
- **Solución nutritiva:** Las soluciones nutritivas hidropónicas, contienen los macros y micros nutrientes que la planta requiere. Estas soluciones se utilizan para humedecer los sustratos y regar las cajas cuando sea necesario. Se prepara en dos soluciones separadas, A y B.

Solución A: se disuelven las sales A en 30 litros de agua, se ajusta el pH a 5.5 con ácido nítrico (200 a 400 ml aproximados, al 2.5%)

Solución B: se disuelven las sales B en 30 litros de agua, se agrega hierro (1ml de hierro Percomplex o Fe MS), se ajusta el pH con ácido nítrico al 2.5% (200 a 400 ml aproximados, al 2.5%).

Para regar las cajas, se mezcla medio litro de A con medio litro de B. solo se mezclan antes de humedecer los sustratos y regar, no se puede guardar como mezcla.

➤ **Preparación de las soluciones nutritivas:**

Se preparan en dos soluciones separadas, A y B

Solución A:

Pesar

Nitrato de calcio (NO₃)₂Ca 35.4 gr.
Disolver en 30 litros de agua, ajustar el pH a 5.7 con ácido nítrico (5%).

Solución B: Pesar

Nitrato de potasio NO ₃ K	15.15 g
Fosfato monopotásico SO ₄ K	4.08 g
Sulfato de magnesio SO ₄ MG	14.79 g
Micronutrientes combinados (*)	0.030 g
Agregar hierro quelatado (**)	150 ml.

(Disolver en 30 litros de agua), ajustar el pH con ácido nítrico al 5%.

Combinación de micronutrientes*: Pesar

Sulfato de cobre -----	5 gr.
Sulfato de zinc -----	5 gr.
Ácido bórico -----	13 gr.
Sulfato de manganeso -----	15 gr.
Sulfato de hierro -----	19 gr.

*Triturar en mortero hasta lograr una mezcla muy fina, mezclar bien y guardar en envase cerrado. Se agregan 0.030 g en 30 litros de solución B.

Solución de hierro MS: Pesar 7.5 gr EDTA Na₂ disolver en 200 ml de agua destilada caliente, dejar enfriar. Pesar 5,5 gr de sulfato de hierro, disolver en 200 ml de agua en frío, juntar todo y llevar a un litro con agua destilada. Se guarda en botella de vidrio color caramelo.

**Se puede utilizar 150 ml de Solución MS Hierro para 30 ml de solución B o 1 ml de Percomplex.

Solución de Ácido Nítrico para medir pH: Se miden 50 ml de ácido nítrico concentrado y se agrega agua hasta completar 1 litro (5%).

- **Preparación área de corte:** Preparar el desinfectante DG6 (cloruro de lapirio) al 1% (5ml en 500ml de agua) Tween 20, 3 gotas en ½ litro. Desinfectar la mesa de trabajo, las pinzas y el bisturí. Extender papel sobre la mesa y humedecer con el desinfectante.

Anexo 4

Escala de clasificación de mini-tubérculos de papa del Centro Internacional de la Papa (CIP)

Cuadro 2. Clasificación de mini-tubérculos reproductivos de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Categoría de tubérculo	Diámetro en milímetros.	Peso en gramos.
Primera	Mayor a 90	Mayor a 30
Segunda	75 a 90	21 a 30
Tercera	50 a 75	11 a 20
Cuarta	25 a 50	2 a 10
Quinta	Menor a 25	Menor a 2

Fuente: Producción de Tubérculos Semillas de Papa, Manual de Capacitación Centro Internacional de la Papa (CIP), 1999,(8)

Cuando la semilla tiene un alto porcentaje de tubérculos grandes, se utilizará mayor cantidad de material para sembrar por unidad de terreno. Los mini-tubérculos ideales para reproducir tienen un diámetro de 50 a 100 mm, que corresponde a un peso entre 12g a 30g

Anexo 5



Transplante al invernadero definitivo



Manejo agrónomico bajo condiciones de invernadero



Producción de tubérculos por categoría



Almacenamiento



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Agropecuaria

