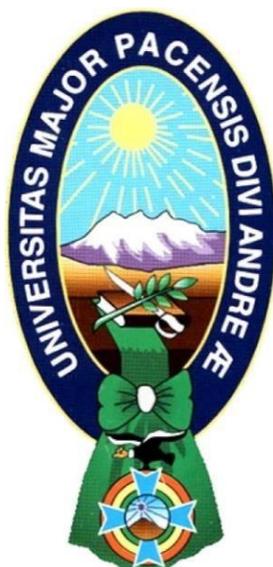


UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



TESIS DE GRADO

CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA DE TUBERCULOS ANDINOS (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*) Y CONOCIMIENTOS ANCESTRALES ASOCIADOS EN EL MUNICIPIO DE TITO YUPANQUI DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ

PRESENTADO POR:

GONZALO CHARCA PABÓN

La Paz – Bolivia
2018

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMIA
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

CARACTERIZACION AGRONOMICA DE TUBERCULOS ANDINOS (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*) Y CONOCIMIENTOS ANCESTRALES ASOCIADOS EN EL MUNICIPIO DE TITO YUPANQUI DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ

Tesis de Grado presentado como
requisito
Parcial Para optar el título de
Ingeniero Agrónomo

Asesor (es):

Ing.M.SC. Rafael Murillo García

Ing.M.SC. Fidel H. Cortez Alvarez

Tribunal examinador:

Ing. M.SC. Estanislao Poma Loza

Ing. Carlos Pérez Limache

Dr. Luis Mario Montaña Riveros

Aprobada:

Presidente tribunal examinador:

La Paz – Bolivia
2018

DEDICATORIA

*Que el presente Trabajo sirva como Testimonio de Agradecimiento a
quien por su Grandeza de su Ser, de su Dedicación Apoyo y
Sacrificio.*

*En un camino que recorrí con alegrías y tristezas donde con su apoyo
logre salir de duros momentos en mi vida.*

Con todo Cariño y Respeto a mi Querida Mamá Nelly Pabón Balboa.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer por sobre todo a Dios por darme vida.

A la Universidad Mayor de San Andrés a través de la Facultad de Agronomía por haberme formado en sus aulas durante los años de estudio y al plantel de docentes por los conocimientos impartidos.

El reconocimiento más sinceros al tribunal de defensa de tesis; Ing. M.SC. Estanislao Poma Loza, Ing. Carlos Pérez Limache, Dr. Luis Mario Montaña Riveros, por sus valiosas sugerencias en la corrección y orientación para la culminación de la presente investigación.

Y mi más sincero agradecimiento a mis asesores Ing.M.SC. Rafael Murillo García y Ing.M.SC. Fidel H. Cortez Alvarez, por su excelente asesoramiento y orientación, sus valiosas enseñanzas en la ejecución de la presente investigación.

A mis hermanos, Rocio C. Charca Pabón y Reynaldo Charca Pabón por todo el cariño, consejos y paciencia que me han tenido.

MUCHAS GRACIAS.

INDICE GENERAL

	Pág.
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo General	2
2.2. Objetivos Específicos	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Recursos Genéticos	3
3.2. Agrobiodiversidad	3
3.3. Recursos Fitogenéticos	4
3.4. Germoplasma	4
3.4.1 Colecciones del Germoplasma	5
3.4.2 Bancos de Germoplasma	5
3.5. Conservación de Recursos Genéticos	6
3.6. Conservación <i>in situ</i>	6
3.7. Caracterización	6
3.8. Accesión	7
3.9. Descriptores	7
3.10. Caracterización Agronómica	8
3.11. Caracterización Morfológica	8
3.12. Conocimiento Tradicional	9
3.13. Saberes Ancestrales	9
3.14. Domesticación de la Papa	10
3.14.2 Clasificación Taxonómica de la Papa	11
3.14.3 Características de la Planta de Papa	11
3.14.4 Fenología de la Papa	14
3.15. Papas Nativas	16
3.15.1 Importancia de las Papas Nativas	16
3.15.2 Uso de las papas nativas	17
3.15.3 Calidad culinaria	17
3.15.4 Características de papa nativa <i>Solanum juzepczukii</i>	19

3.16. Generalidades del cultivo <i>in vitro</i>	21
3.16.1 Métodos de regeneración de plantas.....	22
3.17. Aplicaciones del cultivo de tejidos.....	25
3.17.1 Obtención de plantas libres de patógenos.....	25
3.17.2 Propagación masiva	26
3.17.3 Conservación de germoplasma	27
3.18. Micropropagación.....	27
3.18.1 Ventajas de la Micropropagación.....	29
3.18.2 Factores Limitantes de la Micropropagacion	29
3.19. Fases de la Micropropagación	30
3.19.1 Fase 0 selección del material vegetal	30
3.19.2 Fase I Establecimiento.....	31
3.20. Explante	32
3.21. Medios de cultivo	33
3.22. Composición el medio de cultivo.....	34
3.22.1 Sales inorgánicas.....	34
3.22.2 Compuestos orgánicos	35
3.22.3 Fuentes de carbono	35
3.22.4 Reguladores de crecimiento	35
3.22.5 Agentes gelificantes.....	38
3.22.6 pH del medio de cultivo.....	38
3.22.7 Medios de conservación <i>in vitro</i>	39
4. UBICACIÓN	39
5. MATERIALES Y METODOS	41
5.1. Materiales.....	41
5.1.1 Material vegetal.....	41
5.1.2 Material de campo	41
5.1.3 Material de Laboratorio.....	41
5.1.4 Material de gabinete	42
5.2. Metodología	43
5.2.1 Trabajo de campo.....	43

5.2.2 Trabajo de laboratorio.....	44
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
6.1. Caracterización Agronómica de los ecotipos de papas nativas	53
6.1. Características agromorfológicas de los tubérculos en los ecotipos de papas nativas.....	54
6.1.1. Descripción de la forma y el color del tubérculo.....	55
6.2. Usos de los ecotipos de papas nativas	57
6.2.1 Uso de las papas nativas en la alimentación	58
6.3. Conocimientos Tradicionales y método de tipo de selección de los tubérculos	59
6.4. Conocimientos ancestrales	61
6.4.1 Bioindicadores	61
6.4. Criterios de Calidad Culinaria.....	63
6.4.1 Tiempo de Cocción	63
6.4.2 Evaluación Degustativa	64
6.5. Protocolo de Introducción procedimiento experimental.....	65
6.5.1 Fase Cero	65
6.5.2 Establecimiento del Material Vegetal a condiciones In Vitro (Etapa I)	66
7. CONCLUSIONES	73
8. RECOMENDACIONES.....	75
9. BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXOS	84

INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Fenología de la Papa.....	15
Cuadro 2. Descriptores de color primario, intensidad de color predominante, color secundario de la pulpa de la (carne) del tubérculo	44
Cuadro 3. Tabla de colores básicos e intensidad de color del tubérculo.....	46
Cuadro 4. Descriptores de color primario, color secundario y distribución del color secundario de la pulpa (carne) del tubérculo.....	47
Cuadro 5. Formas de los tubérculos.....	48
Cuadro 6. Descriptor de número y profundidad de ojos de los tuberculos.....	50
Cuadro 7. Caracteres evaluadores de papa para la degustación.....	51
Cuadros 8. Caracterización Agronómica de los ecotipos de papas nativas.....	54
Cuadro 9. Color de la piel y la pulpa del tubérculo de papas nativas.....	55
Cuadro 10. Descripción de la forma del tubérculo.....	56
Cuadro 11. Detalle de los Conocimientos Ancestrales de Características de los Bioindicadores.....	62

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Fenología de la Papa.....	14
Figura 2. Ubicación el municipio de Tito Yupanqui.....	39
Figura 3. Ubicación de la Comunidad de Huatapampa.....	40
Figura 4. Distribución del color secundario de la piel del Tubérculo.....	44
Figura 5. Distribución del color secundario de la carne del Tubérculo.....	48
Figura 6. Forma general del Tubérculo.....	49
Figura 7. Forma rara del Tubérculo.....	49
Figura 8. Estante con luz artificial de muestras de cultivo <i>In vitro</i>	57
Figura 9. Uso de las papas nativas en la alimentación.....	58
Figura 10. Uso de la papa amarga Lu'ki Chuqipitu (<i>Solanum juzepczukii</i>) procesada en chuño.....	58
Figura 11. Tiempo de cocción de tubérculos en estado fresco.....	63
Figura 12. Evaluación degustativa de variedades nativas hervidas de tubérculos en estado fresco.....	64
Figura 13. Lavado de las Muestras de Papas Nativas.....	66
Figura 14. Pesado de reactivos para la preparación del medio de cultivo.....	67
Figura 15. Adición de reguladores de Crecimiento y Aforado del Medio de Cultivo..	67
Figura 16. Estabilización del pH.....	68
Figura 17. Tapado y sellado de vasos con contenido de medio de cultivo.....	69

Figura 18. Autoclavado de medios de cultivo.....	69
Figura 19. Desinfección del material vegetal, por sumersión de las muestras en Alcohol e Hipoclorito de sodio.....	70
Figura 20. Esterilización de los materiales para la Introducción de Explantes.....	71
Figura 21. Siembra de explantes al medio de cultivo.....	72
Figura 22. Sala de crecimiento o sala de incubación.....	72

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la gestión agrícola 2017 –2018 en la comunidad de Huatapampa, con el propósito de caracterizar agronomica y agromorfológica los ecotipos de papas nativas, sistematizar los conocimientos tradicionales y ancestrales y uso de papas nativas sobre su calidad culinaria, y poder determinar un protocolo de introducción y conservación *in vitro* de los ecotipos seleccionados de papas nativas, todo esto para orientar sus usos a futuro.

El estudio comprendió la caracterización agronómica como días a la emergencia, días a la tuberización días a la floración, y días a la madurez, que se presentan en el siguiente documento, la caracterización morfológica describiendo la forma general de los tubérculos, profundidad de los “ojos”, color predominante y secundario de la piel y pulpa del tubérculo de 10 ecotipos de papas nativas. Donde se presentan (4 ecotipos) del color predominante de la piel vienen a ser similares y en los restantes (6 ecotipos) difieren de la descripción del resto, (6 ecotipos) presentaron ojos con profundidad media y el resto presento ojos superficiales, la variabilidad de la forma y la profundidad de los ojos de los tubérculos de una especie a otro varían entre los diferentes ecotipos, estas características son importantes en la decisión de los consumidores ya que puede influir claramente en la pérdida de la pulpa en el momento del pelado, según los productores el sabor puede ser influenciado por el clima (helada, granizo) y por el tipo de fertilizante.

En el protocolo de introducción, la preparación del medio de cultivo se indica que el tamaño de las muestras (brote) deben ser de aproximadamente 10mm de altura, con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación, mientras más pequeña sea la muestra menor será el riesgo de contaminación y la variedad con mayor dificultad para la adaptación del medio de cultivo fue la variedad de papa amarga Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*).

SUMARY

El this study was conducted in the agricultural management 2017-2018 en la tomanidad de Huatapampa, corn andl purpose of caracteriztor agronomic and agromorforologica ecotypes of native, potato sistematiztor the conocimientors tradiciorn tothem and ancient and usor of potatoes on his culinary quality native, and to determine a protocol introduction and conservation in vitro of selected ecotypes of native potatoes, all this for orientar your applications to future.

The study cormprendio the charetoriz ing agronomic as days to emergence, days to the tuberization days to flowering, and days to maturity, which are presented in the following document, the characterization morfologica describiendo the forma general of the tubers, deeplyn depth of the "eyes, color predorminante and secondary to River of Ito skin and pulptotuber of 10 ecotypes of native potatoes. Featuring (4 ecotypes) color dominate you skin come to be similar and the remaining (6 ecotypes) differ from the description of the rest (6 ecotypes) presented eyes with depth media and the rest present superficial eyes, the variability of the shape and the depth of the eyes of tubers from one species to another vary between different ecotypes, these features are important in the decision of consumers already that you can clearly influence loss of pulp at the time of the bare, according to producers the flavor can be influenced by weather (Frost, hail) and by the type of fertilizer.

Introduction Protocol, the preparation of the culture medium is indicated that the size of the samples (outbreak) should be approx. 10 mm in height, with the purpose of reducing the risk of contamination, while smaller less sample will be the risk of contamination and the variety with greater difficulty for the adaptation of the culture medium was the variety of bitter potato Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*).

1. INTRODUCCION

Bolivia tiene una amplia diversidad de cultivos, las cuales deben ser conservadas en los diferentes ecosistemas donde se encuentran adaptadas. La conservación *in situ* de los cultivos andinos se complementa con la agricultura tradicional de los pueblos indígenas y campesinos, actividad que se encuentra en proceso de revalorización, junto con sus tecnologías ancestrales y locales. Los cultivos se constituyen en la base de nuestra seguridad y soberanía alimentaria, no sólo de los que los cultivan sino también de la población en general.

Existe una diversidad de tubérculos andinos que se encuentran distribuidas en las comunidades circundantes al Lago Titicaca, en donde los agricultores cultivan estas variedades en zonas tradicionales y bajo conocimientos propios, contribuyendo a la conservación *in situ* de la agrobiodiversidad.

Se conoce muy poco a cerca de las papas nativas, que es de interés para el presente trabajo de investigación, estas se distinguen en varias especies y numerosas variedades pero la diferencia respecto al uso permite reconocer dos grupos que son la papa amarga y la papa dulce aunque en el interior de cada grupo existen especies y variedades, lo que fue aprovechada como base de la alimentación desde la vigencia de las culturas ancestrales hasta la actualidad.

Las papas nativas constituyen un rico reservorio de genes para los programas de fitomejoramiento debido a su diversidad de formas y colores del tubérculo, sabor y otras características. Por otra parte una característica muy interesante frente a la variabilidad y cambio climático es que las papas amargas son tolerantes a heladas.

En el conocimiento de los consumidores, la papa amarga y la dulce son diferentes en el sabor del tubérculo, pero según el saber local dentro de la papa amarga existen diferencias de especies y variedades, las mismas que no han sido estudiadas y que

en la actualidad están desapareciendo, esto debido a las condiciones ambientales, tecno lógicas, sociales y económicas.

Los usos tradicionales de este recurso genético deben ser revalorizados y promocionados, especialmente con las nuevas generaciones para que este producto no desaparezca y continúe como parte del ámbito cultural andino, y que aporte a la nutrición de población en la comunidad.

El presente trabajo de investigación se realizó para obtener un protocolo de introducción *in vitro* en laboratorio de las diferentes papas nativas recolectadas durante la investigación, la caracterización agromorfológica del tubérculo, y la sistematización de conocimientos tradicionales y ancestrales en calidad culinaria, de la comunidad de Huatapampa del Municipio de Tito Yupanqui.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Caracterización agronómica de tubérculos andinos (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*) y conocimientos ancestrales asociados en el municipio de Tito Yupanqui del departamento de La Paz.

2.2. Objetivos Específicos

- Detallar las características agromorfológicas del tubérculo, en los ecotipos de papas nativas.
- Evaluar los usos de los ecotipos de papas nativas en la comunidad identificada.
- Sistematizar los conocimientos tradicionales y ancestrales con relación al uso de papas nativas sobre su calidad culinaria.

- Determinar un protocolo de introducción y conservación *in vitro* de los ecotipos seleccionados de papas nativas.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Recursos Genéticos

Es todo aquel material de origen vegetal, animal o microbiano que contiene unidades funcionales de la herencia o genes y que presente valor real o potencial. Los recursos genéticos de las plantas cultivadas y de los animales domésticos constituyen la base biológica de la seguridad alimentaria mundial. Corresponde al concepto de agrobiodiversidad estos recursos son la materia prima más importante de los mejoradores de plantas y animales y la aportación más imprescindible para los agricultores (García y Cadima, 2003).

3.2. Agrobiodiversidad

Baena, Jaramillo y Montoya (2003), mencionan que la agrobiodiversidad comprende la variedad y variabilidad de plantas, animales y microorganismos presentes en la tierra, importantes para la alimentación y la agricultura, que resultan de la interacción entre el ambiente, los recursos genéticos y los sistemas y prácticas de manejo utilizados por los diversos pueblos.(Baena et al.2003), expresa que muchos de los componentes de la agrobiodiversidad no sobrevivirían sin la intervención humana, especialmente los que son productos de dicha intervención. Por tanto, el estudio de la agrobiodiversidad abarca:a) la diversidad a nivel de genes, especies y agroecosistemas; b) las distintas formas del uso del suelo y agua en la producción; c) la diversidad cultural que influye en las interacciones humanas a todo nivel.

La diversidad agrícola o agrobiodiversidad está constituida por los componentes de la biodiversidad que son utilizados para la agricultura. Donde asimismo la agrobiodiversidad es un término muy extenso que incluye a todos los componentes de

la diversidad biológica que tengan relevancia en la producción de alimentos y la agricultura en general y todos los componentes de la diversidad biológica que constituyen los agroecosistemas, a saber, las diferentes especies y su variabilidad genética de animales, plantas y microorganismos en sus diferentes niveles: genético, especies y ecosistemas que son necesarios para mantener en funcionamiento a los agroecosistemas, su estructura y procesos (Gonzales 2002, citado por Cadima et al. 2009).

3.3. Recursos Fitogenéticos

Son la suma de todas las combinaciones de genes, esto implica que el material (el germoplasma) tiene o puede tener valor económico o utilitario, actual o futuro. En tanto son útiles, el hombre aprovecha los recursos fitogenéticos y para ello debe conocerlos, manejarlos, mantenerlos y utilizarlos racionalmente. Sin embargo, a pesar de contribuir al sustento de la población y al alivio de la pobreza, son vulnerables; se pueden erosionar hasta desaparecer, poniendo en peligro la continuidad de nuestra especie.

Paradójicamente, tanto el aprovechamiento como la pérdida de estos recursos dependen de la intervención humana (Baena y Jaramillo, 2000). Revollo (2004), menciona que los recursos fitogenéticos comprenden la diversidad genética del mundo vegetal que se considera poseedora de un valor para el presente o el futuro.

3.4. Germoplasma

El germoplasma constituye el elemento de los recursos genéticos que incluye la variabilidad genética intra e inter específica, con fines de utilización en la investigación en general y especialmente en el mejoramiento genético (Goedert et al. 1997, citado por Revollo, 2004). Holle (2004), señala que se denomina germoplasma a cualquier parte de una planta que contiene la información genética necesaria para regenerar y producir una nueva planta adulta.

3.4.1 Colecciones del Germoplasma

Según Jaramillo y Baena (2000), las colecciones son congregaciones de accesiones representativas de una variación genética objetivo de conservación y/o utilización. Las colecciones de germoplasma se clasifican en colección base, activa, núcleo, y de trabajo.

La colección base agrupa a la variabilidad genética posible de las especies de interés, incluyendo parientes silvestres, formas intermedias, cultivares, variedades tradicionales y germoplasma elite. La colección activa es un duplicado de la colección base, establecida a corto y mediano plazo para manejo y distribución. Puede conservar germoplasma en forma de semilla, en campo o *in vitro*. La colección núcleo reúne la mayor variabilidad genética de una especie en el menor número de muestras. Se forma duplicando la colección base, separando las accesiones que constituirán la colección núcleo y llevando el resto de la colección de reserva. La colección de trabajo o colección del mejorador, se establece para suministrar germoplasma a investigadores, instituciones o programas de investigación y/o mejoramiento.

3.4.2 Bancos de Germoplasma

Mujica, *et al.* (2004), conceptualiza como banco de germoplasma un área determinado de terreno o ambientes contruidos, acondicionados para el almacenamiento de plántulas *in vitro*, plantas, jardines de colectas, plantas desarrolladas y semillas, el cual debe estar atendido por personal especializado.

En el área de los recursos genéticos, un banco de germoplasma o banco de semillas es un lugar destinado a la conservación de la diversidad genética de uno o varios cultivos y sus especies silvestres relacionadas. En muchos casos, no se conservan semillas sino otros propágulos, tales como tubérculos o raíces debido a que el cultivo en cuestión se multiplica sólo asexualmente. La conservación de las semillas se realiza a bajas temperaturas, de modo de mantener por muchos años una adecuada viabilidad

de las mismas. Físicamente, los bancos de germoplasma consisten en grandes depósitos de sobres de semillas conservados a bajas temperaturas.

3.5. Conservación de Recursos Genéticos

Según Checa et al. (1998) la conservación y el manejo de los recursos genéticos es uno de los objetivos prioritarios de la investigación agrícola, por la importancia que ellos representan tanto para la población actual como para las futuras generaciones.

Asimismo (Baena y Jaramillo 2000), indican que se pueden combinar ambos métodos *in situ* y *ex situ*, es decir, de manera complementaria. La selección de uno o varios métodos depende de las necesidades de investigación y de la especie objetivo.

3.6. Conservación *in situ*

La conservación *in situ* consiste en proteger los ecosistemas naturales manteniendo las poblaciones de las especies que los componen o recuperándolas si se han deteriorado. Desde el punto de vista de la agrobiodiversidad la conservación en fincas o sistemas tradicionales de cultivo es el manejo sostenible de la diversidad genética de variedades tradicionales desarrolladas localmente por agricultores en sistemas de producción agrícola, hortícola o agrosilvopastoril, conjuntamente con las especies silvestres y formas regresivas. Baena et al (2003).

3.7. Caracterización

Rojas (2003), establece que consiste en describir los atributos y/o características de las accesiones de las colecciones de germoplasma, para diferenciar, determinar su utilidad e identificar genes de importancia agronómica e industrial.

Jaramillo (2000), menciona que son actividades complementarias que sostienen en describir los atributos cualitativos y cuantitativos de las accesiones de una misma especie para diferenciarlas, determinar su utilidad, estructura, variabilidad genética y relaciones entre ellas, también localiza genes que estimulen su uso en la producción o en el mejoramiento de cultivos.

3.8. Accesoión

Soto (2001), menciona que accesoión es el término utilizado para calificar toda muestra de germoplasma que presenta la variación genética de una población o de un individuo. Debe preferirse utilizar el término accesoión, aunque también se ha referido como entrada, por representar un elemento de recolección y colecta, por tratarse muestras obtenidas a través de procedimientos de colección.

Señala que la accesoión de un banco genético es una muestra vegetal que se ha recibido para su procesamiento y eventual almacenamiento y evaluación.

Para ser utilizado por los mejoradores las accesiones primero deben examinarse por sus reacciones y diversos organismos patógenos y a otros estreses ambientales.

Las accesiones de los bancos genéticos son generalmente razas nativas o variedades tradicionales seleccionadas por los agricultores.

3.9. Descriptores

PROINPA. (2003), menciona que en el trabajo de recursos filogenéticos se usa la palabra “descriptores” para definir una característica o un atributo que se observa en las accesiones de una colección de germoplasma. Los estados de un descriptor son los valores que pueden tener un descriptor en un caso específico. La guía de descriptores para especie es el conjunto de características que pueden ser

registradas en la que se incluye: datos de pasaporte, datos de caracterización, de evaluación preliminar y de evaluación posterior.

3.10. Caracterización Agronómica

Según León, Velarde y Quiroz (1994), La caracterización permite clasificar la función que cumple cada componente de los sistemas, en relación a la generación y difusión de alternativas tecnológicas. También indican que los objetivos de caracterización de un sistema son; conseguir información técnica de referencia sobre las prácticas productivas y la productividad en el lugar de estudio. Entender el proceso de toma de decisión de los productores en relación con el funcionamiento de sus sistemas de producción. Identificar los principales factores limitantes (físicos, biológicos, sociales y económicos) y las posibilidades de generar alternativas para los sistemas caracterizados.

3.11. Caracterización Morfológica

Jaramillo y Baena (2000), definen que la caracterización consiste en describir sistemáticamente los cultivares de una especie a partir de características cualitativas como el hábito de crecimiento, la altura de planta y el color de las flores. Estas características son de alta heredabilidad y no varían con el medio ambiente; los mismos autores señalados anteriormente mencionan que la caracterización consiste en describir las características agronómicas de las accesiones (rendimiento o resistencia a estrés biótico o abiótico), generalmente cuantitativas y de baja heredabilidad en el máximo posible de ambientes, con el fin de identificar materiales adaptables y con genes útiles para la producción de alimentos y/o el mejoramiento de cultivos.

La caracterización se realiza en una población representativa del germoplasma y mediante una lista de descriptores (características) y los instrumentos para registrarlos. El material que se va a caracterizar se siembra en el campo o en

invernaderos, en parcelas debidamente identificadas y en condiciones de manejo uniformes. Establecidos las poblaciones objetivo, se observan las características de la especie en las diversas etapas de desarrollo y se registra la expresión a partir de un conjunto seleccionado de descriptores. Los datos se toman y se registran de forma sistemática, ordenada y consiste para facilitar su posterior análisis estadístico y para que la información que se obtenga en diferentes regiones a partir de los mismos descriptores sea comparable y compatible (Baena y Jaramillo, 2000).

La caracterización, como parte integrante del manejo de recursos genéticos, permite medir características fenotípicas en base a las cuales se puede clasificar un determinado germoplasma, con la perspectiva de utilizar dicha información en programas de mejoramiento (Cadima et al. 2009).

3.12. Conocimiento Tradicional

Los conocimientos tradicionales representan una herencia de los antepasados respecto a experiencias con el ambiente natural, a lo largo de los años. Este conocimiento mejora lógicamente la probabilidad de realizar un diagnóstico de la agrobiodiversidad en los organismos que habitan el ecosistema de entorno (Bioética, 2010).

Fundación PROINPA (2002), expresa que en la conservación de la agrobiodiversidad es fundamental la participación de los agricultores, siendo las familias quienes siembran y cosechan todos los años la diversidad de cultivos, para garantizar su alimentación diaria. Asimismo, a esto se suma los conocimientos tradicionales en la identificación y descripción de las variedades, haciendo que estas variedades puedan ser destinadas a diferentes usos por sus características.

3.13. Saberes Ancestrales

Cadima (2007), indica, que los agricultores dan importancia a la conservación de la variabilidad de un cultivo, de acuerdo al valor que le asigna, el cual se mide en términos

de uso. Los usos están asociados al conocimiento tradicional heredado desde tiempos ancestrales, los cuales pasan de generación en generación como parte de una herencia cultural. Asimismo la Ripa y Mérida (2002), mencionan que los saberes ancestrales son innovaciones y prácticas de las comunidades indígenas y locales, importantes para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad.

El estado actual de las culturas andinas en lo relativo a la conservación de métodos adecuados al laboreo de la tierra, se puede resumir al uso de ciertas técnicas de minimizar los riesgos climáticos, como ser el uso de diferentes épocas de siembra, el uso de diversas variedades de una misma especie y cultivos asociados que intenten minimizar los efectos de eventos extremos estacionales como ser sequías o lluvias excesivas (Durán, 1989). De la misma forma la FAO (1993) citado por Pacheco (2006), indica que los agricultores a lo largo de 12000 años han seleccionado variedades de cultivos y de razas de ganado para satisfacer las condiciones ambientales y diversas necesidades nutricionales y sociales. La inmensa diversidad genética de los sistemas agrícolas tradicionales es el producto de la innovación humana y de la experimentación tanto histórica como actual.

3.14. Domesticación de la Papa

La domesticación de la papa empezó hace miles de años, en los valles interandinos y las pendientes occidentales de los Andes del Perú, de estas zonas la papa ha emigrado al resto del altiplano y durante el Imperio Incaico se distribuyó por todo el Tahuantinsuyo incluso llegando al Sur de Chile y al Suroeste de Colombia (Chávez, s.a.).

Se presume que en todo el Tahuantinsuyo los incas habían logrado domesticar y cultivar cerca de 3000 variedades agrupadas en ocho especies de papa, de las cuales cerca de 1000 se habrían extinguido razón por la cual ahora en los Andes del Perú, Bolivia y Ecuador se cultivan alrededor de 2000 variedades nativas (Chávez s.a.).

Hace 10 000 o 8000 años atrás cuando se inicia la agricultura en la chacra primitiva se sembraron diferentes especies de papas silvestres y a través de los años el agricultor fue seleccionando híbridos que producían tubérculos de mayor tamaño que sean menos amargas y las que se adaptan a diferentes condiciones climáticas y tipos de suelo de los Andes (Egúsqiza, 2000).

Las papas fueron domesticadas partiendo de las especies silvestres, posteriormente creándose nuevas especies mediante cruzamientos naturales o dirigidas, que permitieron la formación de numerosas variedades, el principal centro de domesticación de las papas es la región andina más específicamente el Sur de Perú y parte de Bolivia (Tapia y Frías, 2007).

3.14.2 Clasificación Taxonómica de la Papa

Salazar et al. (2008), realizan la clasificación taxonómica de la papa de la siguiente manera.

Tipo: Spermatophyta

Clase: Angiospermas

Sub-clase: Dicotiledónea

Orden: Tubbiflorae

Familia: Solanaceae

Género: Solanum

Especie: tuberosum

Sub-especie: Andigenum

3.14.3 Características de la Planta de Papa

i) La Planta La papa es una planta suculenta, herbácea y anual por los tallos aéreos y perene por los tallos subterráneos (tubérculos) posee un tallo principal y a veces varios tallos dependiendo del número de yemas que hayan brotado del tubérculo. Los tallos son de sección angular, en las axilas de la hoja y tallos se forman ramificaciones

secundarias (Montaldo, 2010). La planta de papa es un conjunto de tallos aérea y subterráneos (Egúsqüiza, 2012).

ii) La Hoja La planta de papa presenta hojas alternas al igual que los estolones las primeras hojas son simples, después están las compuestas, imparipinadas con 3 a 4 hojas laterales y una hoja terminal, entre la hojas laterales hay hojuelas pequeñas de segundo orden (Montaldo, 2010). Egúsqüiza (2012), menciona que la hoja es la estructura que sirve para captar y transformar la energía (luz solar) en energía alimenticia azúcares y almidón.

Según Cortez y Hurtado (2002) las hojas son compuestas y presentan un folíolo terminal, algunos laterales y secundarios, pecíolos, raquis y hojas pseudoestipulares.

iii) La Flor Según Montaldo (2010), las flores de la papa son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es gamosépalo lobulado, la corola es rotacea pentalobulada, varían de color blanco a púrpura según la variedad con cinco estambres, cada estambre posee dos anteras que producen polen a través de un tubo terminal, gineceo con ovario bilocular.

La flor es pentámera tetracíclica, posee cinco estambres de color amarillo, anaranjado y un solo pistilo. La inflorescencia de la papa es una cima terminal que puede ser simple o compuesta. El color de las flores es variable, rosado, blanco, morado (varios tonos) o mezcla de dos colores; las flores generalmente se autopolinizan (Cortez y Hurtado, 2002).

iiii) El Fruto El fruto es una baya bilocular de 15 a 30 mm de diámetro de color verde, verde amarillento o verde azulado y que también varían de forma, cada fruto contiene aproximadamente 200 semillas (Montaldo, 2010).

La baya es de color verde, generalmente es de forma redonda, en el interior crecen 200 semillas por baya, el tiempo de maduración de las bayas es de 45 a 60 días después de la floración (Cortez y Hurtado, 2002).

iiii) La Raíz Según Montaldo (2010), la planta de papa posee un sistema radicular fibroso y muy ramificado, las raíces se desarrollan en verticilo en los nudos del tallo principal, su crecimiento primero es vertical y luego es horizontal de 25 a 50 cm.

Para Egúsqiza (2000), la raíz es la estructura subterránea responsable de la absorción del agua se origina en los nudos de los tallos subterráneos y en conjunto forma un sistema fibroso.

En las plantas provenientes de semilla sexual la raíz principal es filiforme, con ramificaciones laterales formando un sistema fibroso, mientras la raíz formada a partir de tubérculo (semilla) es fibrosa, no presenta una raíz principal y posee muchas raíces adventicias. Su mayor crecimiento lo desarrolla en los primeros 0.20 m de profundidad, extendiéndose lateralmente de 0.30 hasta 0.60 m (Cortez y Hurtado, 2002).

iiiiii) Tubérculo El tubérculo es un tallo subterráneo modificado para el almacenamiento de almidón; posee yemas axilares en grupos de 3 a 5, protegidos por hojas escamosas (ojos). El tubérculo es un sistema morfológico ramificado, los ojos de los tubérculos tienen una disposición rotada alterna desde el extremo proximal del tubérculo hasta el extremo distal, donde los ojos son más abundantes. La parte exterior del tubérculo se denomina periderma, debajo de ella viene una franja estrecha difícil de ver a simple vista ambas secciones forman la cáscara, la médula o eje del tallo (tubérculo) se ramifica hacia los ojos o yemas del tubérculo (Montaldo, 2010).

Según Montaldo (2010) el tubérculo de papa está compuesto de 2 % de cáscara, 75 a 85 % de parénquima vascular de almacenamiento y 14 a 20 % de médula. Para Martínez (2009) la planta de papa es un conjunto de tallos especializados para

sostener hojas y flores (tallos aéreos) trasportar azucares (estolones) y almacenar sustancias y almidones (tubérculos), el tubérculo es el tallo subterráneo que es la porción apical del estolón cuyo crecimiento es fuertemente comprimido u orientado hacia los costados (expansión lateral).

Los tubérculos se originan en el extremo del estolón y tienen yemas cuya formación es consecuencia de la proliferación del tejido de reserva que estimula el aumento de células hasta un factor de 64 veces (Andrade y Cuesta, 1996 citado por Martínez, 2009).

3.14.4 Fenología de la Papa

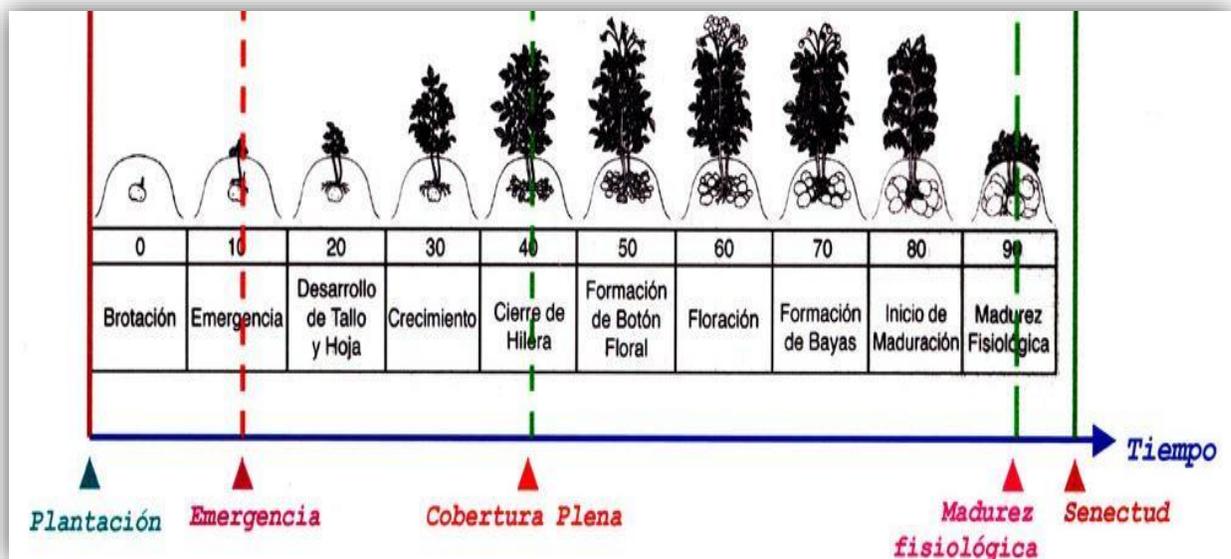


Figura 1. Fenología de la papa

Fuente: Jara, 2014.

En el siguiente cuadro se detalla las características fenológicas de la papa.

Cuadro 1. Fenología de la papa

Etapa	Características	Duración
Dormancia o reposo de semillas	Transcurre entre la cosecha y brotación	2 a 3 meses
Brotación	Comienzan a emerger las yemas de los tubérculos	2 a 3 meses
Emergencia	Los brotes emergen en el campo cuando Tienen condiciones adecuadas de temperatura y humedad	10 a 12 días de plantado
Desarrollo de tallo	Crecimiento del follaje y raíces simultáneamente	20 a 30 días
Tuberización y floración	La flor es señal de la formación de estolones y que inicia la tuberización	Variedades precoces 30 días después de las intermedias 30 a 45 días, tardías 50 a 60 días
Desarrollo de los tubérculos	En esta etapa los tubérculos ya están listos para ser cosechados.	Variedades precoces a los 75 días
		Intermedias a los 90 días
		Variedades tardías a los 120 días
En zonas bajas, templadas y calurosas el ciclo vegetativo de la papa es de aproximadamente 90 días, mientras que en zonas altas y frías oscila entre 120 y 150 días dependiendo de la variedad cultivada.		

Fuente: MDRyT, 2011 con base de FAO, 2008.

3.15. Papas Nativas

La mayor diversidad de la papa se encuentra en la región andina de la cuenca del lago Titicaca desde 3800 a 4500 m.s.n.m. donde se tiene la mayor variabilidad de las especies cultivadas y silvestres como en ningún otro lugar del mundo por lo que esta región del Altiplano razón por la cual se considera como el principal centro de origen de la papa (Hawkes, 2012 citado por Pacheco, 2014).

Según Brack y Mendiola et al. (2000) citado por Muñoz y Estaña (2012), la mayor diversidad genética de la papa, se encuentra entre la cordillera blanca de los Andes centrales del Perú y en los contornos del lago Titicaca, también en el Noroeste de Bolivia, es decir, entre los 9 a 17 grados de Latitud Sur, es la única zona en la que se aprecia la totalidad de especies cultivadas de papa; es probable que allí se haya originado y domesticado la papa hace más de 7000 años a C.

El centro primario de diversificación de papa corresponde a la zona andina que abarca desde Colombia, atravesando por Ecuador, Perú, Bolivia y parte de Norte de Chile y Argentina; los centros secundarios corresponden a Sur de México, Guatemala, El Salvador, partes occidentales de Honduras, Nicaragua, parte Noroeste de Costa Rica, Venezuela y una parte Sur de Chile (Cortez y Hurtado, 2002).

3.15.1 Importancia de las Papas Nativas

Según estudios desarrollados por el Centro Internacional de la Papa, este producto andino contiene hierro y zinc, elementos que elevan el coeficiente intelectual de las personas que consuman este producto además de crear defensas para resfríos por su alto valor de vitamina C.

La consultora técnica del proyecto de Innovación, Seguridad y Soberanía Alimentaria de la región de los Andes (Issandes), Carmen Huanca, detalló la importancia del valor nutritivo que tienen las papas nativas, esas pequeñas y de color, donde

investigaciones demostraron su importancia dentro de la alimentación humana. (La Patria, 2013).

3.15.2 Uso de las papas nativas

Las variedades nativas se utilizan para la obtención de diferentes tipos de chuño. A la vez, el chuño se utiliza en diversas preparaciones de comidas, sopas (hojas y tubérculos) y así mismo se le da usos secundarios de las papas nativas como el follaje fresco en forraje para el ganado; tubérculos y hojas para usos medicinales; el líquido de los tubérculos de ciertas variedades amargas para lavar ropa (CIP, 2006).

3.15.3 Calidad culinaria

La calidad culinaria está determinada de una serie de factores como el tiempo de cocción, después del cocido el tubérculo debe conservar la forma original sin desintegrarse y la textura de la pulpa en la mayoría de los gustos prefieren harinosa o jabonosa de grano fino el color de la pulpa después de cocido depende del color original las variedades nativas puede ser de color rojo, azul púrpura lo importante es que el tubérculo cocido debe conservar el color original y no ennegrecerse y el sabor que es acondicionada de todas las anteriores (Montaldo, 2010).

La calidad culinaria de los tubérculos de papa es una característica genética que está influenciada por las condiciones ambientales y el manejo agronómico (temperatura durante el ciclo de crecimiento de la planta, precipitación, tipo de suelo, fertilización química y orgánica empleada y especialmente la madurez del tubérculo), siendo los factores de calidad culinaria la textura, el color y el sabor (Coraspe, 2008).

El mismo autor indica que la textura es importante en la calidad del tubérculo, que está relacionado entre el contenido de materia seca del tubérculo crudo y la textura del tubérculo cocido.

Coraspe (2008) menciona que el color del tubérculo es resultante de ciertas condiciones fisiológicas y reacciones químicas por lo que la decoloración enzimática es el resultado de las oxidaciones enzimáticas en las células cuando son expuestas al aire y el oscurecimiento después de la cocción es uno de los factores indeseables que tienen la tendencia a tornarse de color oscuro o gris y el sabor es una característica que se refiere a la evaluación del paladar, pudiendo ser las papas insípidas o gustosas, este parámetro se debe principalmente a la cantidad de compuestos volátiles.

Monteros et al. (2011), realizaron la caracterización de calidad de papa para el consumo considerando el tiempo de cocción, sabor, textura, tiempo de verdeamiento, materia seca, gravedad específica, porcentaje de hojuelas fritas de buena calidad y tiempo de pardeamiento sometiendo tubérculos con cáscara en agua, a temperatura de ebullición y registrando el tiempo de cocción en (minutos), realizando la evaluación en papas enteras cocidas para que calificaran mediante escala hedónica de 1 a 4.

La calidad del tubérculo crudo se refiere en especial a la forma y la profundidad de ojos apertura de lenticelas contenido de materias seca y proteínas, el contenido de proteínas, aminoácidos y azúcares reductores tienen importancia en la calidad culinaria. Las industrias prefieren variedades con alto contenido de materia seca y bajo contenido de azúcares reductores (Montaldo, 2010).

La calidad culinaria de la papa está relacionado con su contenido de materia seca (Cortez y Hurtado, 2002).

La calidad culinaria de papa amarga fue probada por Bonifacio (1992), siendo la evaluación por degustación directa en forma de papas hervidas y papas blancas.

-Tiempo de cocción El tiempo de cocción de tubérculos se prefieren de 25 a 40 minutos y que no requiera temperaturas elevadas que la cocción sea uniforme de todas las secciones del tubérculo (Montaldo, 2010).

Según Cadima et al. (2003) las papas harinosas son de cocción rápida y se consumen preferentemente en forma de "wayk'u" o "qhati" (papa cocida con cáscara) en cambio las papas aguanosas son de cocción morosa.

Uno de los procesos para evaluar la calidad de papa es sometiendo a cocción las papas y midiendo el tiempo de cocción desde el momento en que el agua con tubérculos alcance su punto de ebullición hasta que los tubérculos tengan una consistencia suave (Martínez, 2009).

-Color Es la sensación percibida por la vista, este atributo sensorial es muy considerado en proceso de papa frita en hojuelas (López et al., s. a).

-Sabor La cualidad se juzga mediante olfacción y gustación la presencia de un sabor típico de papa (Valdunciel, s. a).

-Textura Es la estructura de la papa y se puede determinar mediante la fricción de un pedazo entre la lengua y el paladar (Valdunciel, s. a).

-Adhesividad Es la capacidad que tiene para pegarse el alimento en otra superficie (tacto, paladar, dientes) las papas pueden ser no adhesivo; poco adhesivo, Adhesivo o muy adhesivo (López et al., s. a).

-Harinocidad Es el grado de friabilidad puede ser determinada visualmente y entre la lengua y el paladar (Valdunciel, s. a).

3.15.4 Características de papa nativa *Solanum juzepczukii*

Canqui y Morales (2009) mencionan, que las plantas de la papa amarga alcanzan de 30 a 50 cm de altura, el follaje es de color verde claro a verde oscuro y presenta de uno a tres tallos aéreos semiramificados a ramificados, tiene flores de variados colores

y un hábito de crecimiento postrado o semipostrado, el diámetro de la planta varía entre 30 a 60 cm.

Tapia y Saravia (1997) y Cadima et al. (2003) deducen, que los agricultores elaboran chuño y tunta de las papas amargas, según los agricultores estos son resistentes a las enfermedades, plagas y son muy fuertes para resistir las heladas, periodos de deficiencia hídrica (sequías). Estas características hacen que estas variedades de papa tengan una producción estable aunque son de ciclo de producción bastante largo (5 a 8 meses) y producen menos que las variedades dulces dichas características (ventajas y desventajas) son conocidos por los agricultores y en base a este conocimiento aprovechan las cualidades de productividad, durante el año las papas amargas les proporcionan la seguridad de tener siempre con que alimentarse.

La especie *S. juzepczukii* es un triploide y se considera planta de baja altura por que las plantas crecen de 62 a 98 cm (Huamán, 2008).

De acuerdo a la opinión campesina la papa amarga *Solanum juzepczukii* florece tres veces, una para formar raíces y hojas, otra para formar estolones y la última para producir tubérculos, aunque la diferencia en las tres fases de floración no es muy marcada (Tapia y Saravia, 1997).

Según Cadima et al. (2003), los ecotipos de papa amarga son conocidas como Luk'í, los tubérculos son de colores pálidos y ojos semi profundos. Los tubérculos de papa *Solanum juzepczukii* son redondas, ovaladas, alargadas, planas, ojos superficiales o muy hundidos y el color de la pulpa o carne va desde el blanco hasta el morado (Tapia y Frías, 2007).

Los tubérculos de papa *Solanum juzepczukii* son cilíndricos, gruesos y alargados de diferentes colores y con abundantes yemas en el ápice (Canqui y Morales, 2009).

3.16. Generalidades del cultivo *in vitro*

Pérez (1998), los orígenes del cultivo *in vitro* se remontan a 1902 con los intentos realizados por Haberland de cultivar células aisladas de plantas, quien postulo el principio de la totipotencia celular, que es la base teórica sobre la que se sustentan todas la técnicas del cultivo *in vitro*.

El cultivo *in vitro*, es el conjunto de técnicas y metodologías que permiten el cultivo de partes de una planta tales como órganos, tejidos, células o simplemente protoplastos en un recipiente que contienen sustancias nutritivas en condiciones estériles y en un ambiente controlado.

Esta técnica aprovecha la totipotencia de las células vegetales, ósea la capacidad de reproducir órganos con retoños y/o raíces, organogénesis en un medio de cultivo favorable en un recipiente (Mendoza, 1994; citado por (Villalaba, 2003).

Pérez (1998), los orígenes del cultivo *in vitro* se remontan a 1902 con los intentos realizados por Haberland de cultivar células aisladas de plantas, quien postulo el principio de la totipotencia celular, que es la base teórica sobre la que se sustentan todas la técnicas del cultivo *in vitro*.

In vitro significa sencillamente “en vidrio”, porque durante las primeras etapas del proceso las plantas crecen en tubos de ensayo y matraces. Esta técnica se basa en la “totipotencia celular, la capacidad de una célula vegetal de formar una planta completa, bajo condiciones dadas en el cultivo *in vitro* (Hewstone y Reyes, 2011).

Vasil (1994), indica que a partir de los avances alcanzados en la regeneración de las plantas *in vitro* se ha desarrollado toda una industria de micropropagación, que se inició por los países desarrollados de Europa y Estados Unidos y que en la actualidad se ha extendido al resto del mundo incluyendo a países de América Latina, Asia y África.

Esta industria está compuesta por cerca de 600 compañías en el mundo con una producción de más de 500 millones de unidades por año.

Pérez (1998), El cultivo de tejidos puede definirse como un conjunto de técnicas que permiten el cultivo en condiciones asépticas de órganos, tejidos, células y protoplastos empleando medios nutritivos artificiales.

El término cultivo in vitro es considerado “cultivo de tejidos” siendo una herramienta de la biotecnología que permite el uso de un conjunto de técnicas que establecen el cultivo en condiciones asépticas usando como material de partida: órganos, tejidos, células, etc., empleando medios nutritivos artificiales (Espinoza, 2013).

Según Murillo (2014), el término genérico “cultivo de tejidos vegetales” involucra a diferentes técnicas de cultivo de material vegetal diverso, incluyendo a los protoplastos (células desprovistas de su pared celular), células, tejidos, órganos y plantas completas. Mediante estas y otras técnicas de cultivo, es posible obtener plantas libres de microorganismos en un medio nutritivo aséptico (estéril) en condiciones ambientales controladas.

3.16.1 Métodos de regeneración de plantas

j) Organogénesis La organogénesis es un evento morfogénico que se caracteriza por su desarrollo unipolar, en otras palabras, es la formación de un primordio unipolar a partir de una yema con el subsecuente desarrollo de este en un brote vegetativo, existiendo siempre una conexión entre los nuevos brotes y el tejido paterno. Estos brotes vegetativos son posteriormente puestos a enraizar en otra etapa, vía formación de primordios de raíces y el subsecuente enrizamiento final. Los brotes pueden formarse directamente del explante (organogénesis directa) o indirectamente a partir de callos.

En contraste con la embriogénesis somática, en la vía organogénica para lograr la formación de una planta completa, ya sea por la vía directa o indirecta, se requiere de una secuencia de medios de cultivo, ya que aquellos medios que favorecen en el desarrollo de los brotes inhiben la formación de raíces y viceversa.

Espinoza (2013), indica este método fue uno de los primeros en ponerse en práctica, consiste en emplear explantes provenientes de raíces, tallos, hojas, embriones, anteras, meristemos y otros. Entre los mencionados el cultivo de anteras, embriones y de meristemos son muy importantes porque tienen una utilización frecuente en la propagación y mejoramiento genético.

Cuando un órgano es cultivado en medios de cultivo llamado también medios sintéticos, el crecimiento y desarrollo puede continuar de manera semejante a la que tenía en la planta madre o cambiar totalmente, por ejemplo un embrión aislado de una semilla e inoculado en medio sintético puede crecer y desarrollarse armónicamente hasta formar una planta completa; sin embargo dependiendo de los reguladores de crecimiento presentes en el medio de cultivo se pueden favorecer el desarrollo solo de los primordios foliares o radiculares del embrión, existiendo un desarrollo desproporcionado en una de las dos partes, es posible también que los reguladores de crecimiento en los medios de cultivo puede inducir la formación de callos, meristemas, apical y yemas (Espinoza,2013).

-Formación de yemas axilares Hu y Wang (1983), Esta técnica se basa en la formación de brotes a partir de las yemas que se encuentran en las axilas de las hojas o primordios de hojas, los cuales son divididos y subcultivados repetidamente.

Murillo (2014), entre los métodos para lograr la multiplicación de propagalos in vitro, la proliferación de yemas axilares posibilita la estabilidad genética en las plantas producidas y puede ser fácilmente establecida en la mayoría de las especies. Es el método que mayor popularidad ha alcanzado en los últimos años.

Según Takayama y Akita (1996), Este método a pesar de no ser el más rápido, ha sido el más utilizado para la propagación comercial debido en primer lugar a la facilidad con que se ha establecido en la mayoría de las especies y en segundo lugar a la estabilidad genética de las plantas regeneradas, siendo el sistema de regeneración en el cual se reportan los menores índices de variación genética. Su principal desventaja radica en la laboriosidad del proceso, lo cual implica altos costos por mano de obra, bajos coeficientes de multiplicación en comparación con otros sistemas de regeneración y escasa posibilidad de automatización del proceso productivo. No obstante, existen posibilidades de automatizar algunas etapas del proceso con la utilización de bioreactores.

-Formación de yemas adventicias Con esta técnica es posible producir un mayor número de plantas por unidad de tiempo en comparación con el método de yemas axilares y a la vez presenta mayores posibilidades de mecanización-automatización, existiendo ya varios ejemplos de utilización de birreactores para su producción (Akita y Col, 1994).

Sin embargo, al igual que el método de yemas axilares tiene la limitante de que el proceso productivo es realizado en dos etapas: producción de brotes y crecimiento-enraizamiento. Adicionalmente presenta el inconveniente de que puede ser una fuente de variación genética debido al propio origen unicelular de las yemas adventicias (Reuveni y Col, 1985).

jj) Embriogénesis somática Se ha definido como embriones somáticos, asexuales o adventicios los iniciados a partir de células que no son el producto de la fusión de gametos (Tisserat, 1979).

Según Litz y Jarret (1991), los embriones somáticos son estructuras bipolares, que tienen un eje apical radical, aislados por un tejido epidérmico y no poseen conexión vascular con el tejido materno. Estas estructuras bipolares deben ser capaces de crecer y formar plantas normales.

Este método es ampliamente considerado como el más eficiente para la producción masiva de plantas in vitro, debido a la naturaleza bipolar del embrión y la facilidad con que puede ser automatizado todo el proceso productivo (Preil,1991).

Redenbaugh (1986), indica que los altos coeficientes de multiplicación en cortos periodos de tiempo y la posibilidad de encapsular estas estructuras y obtener semillas artificiales.

Su desventajas radican en el desconocimiento que existe sobre la biología del proceso, siendo limitado el número de especies en los cuales se reporta una embriogénesis somática eficiente que permite un uso aplicado del método aun cuando se reporta la embriogénesis somática en un número relativamente alto de especies; destacándose la zanahoria la alfalfa y el apio por su elevada capacidad embriogénica , así como por el número de investigaciones realizadas y por los éxitos obtenidos en el aumento de la eficiencia de la embriogénesis, encaminados a la producción de semilla artificial y a la multiplicación masiva en medios líquidos empleando bioreactores (Renbaugh. 1986).

3.17. Aplicaciones del cultivo de tejidos

3.17.1 Obtención de plantas libres de patógenos

Pudiera decirse que esta fue la primera aplicación práctica de las técnicas de cultivo in vitro. Desde la demostración de que mediante el cultivo de meristemas podían aislarse zonas de tejidos que escaparan a la infección viral y la posibilidad de regenerar plantas libres de virus a partir de estos (Morel y Martin, 1955).

La obtención de plantas libres de patógenos es la base de la propagación masiva de plantas, pues como mismo se puede multiplicar rápidamente el material de siembra,

existe el peligro de la diseminación acelerada de microorganismos fitopatógenos junto con este (Pérez 1998).

Es por esta razón que debe asegurarse la completa sanidad de los explantes iniciales, para lo cual la estrategia más sencilla consiste en tomar los explantes de plantas previamente diagnosticadas como libre de enfermedades; pero para realizar esto es necesario contar con sistemas de diagnóstico suficientemente seguros (Hernández, 1997; citado por Murillo 2014).

Sin embargo, no siempre es posible contar con plantas saneadas y entonces es necesario recurrir a un grupo de técnicas para el saneamiento. Entre las técnicas que se utilizan están el cultivo de meristemos, la termoterapia, a quimioterapia y más recientemente la electroterapia (Hernández, 1995).

3.17.2 Propagación masiva

La propagación de plantas es sin duda la más popular de las aplicaciones del cultivo *in vitro*, sus bases fueron establecidas desde los años 50 y 60 y fue realmente en las décadas del 70 y 80 que se estableció una verdadera industria de micropropagación (Kitto, 1997).

Pérez (1998), menciona las principales ventajas de este sistema de propagación se pueden resumir en:

- Altos coeficientes de multiplicación que permiten manipular volúmenes elevados de plantas en cortos periodos de tiempo.
- Introducción rápida de nuevas variedades o clones.
- Producción independiente de las condiciones ambientales.
- Incremento en los rendimientos debido al rejuvenecimiento y al saneamiento.
- Uniformidad en las plantas producidas.
- Mayor facilidad en la comercialización.

La formación de brotes a partir de ápices yemas o meristemos y la subsecuente regeneración de plantas es el sistema más sencillo de multiplicación in vitro y son más de miles las especies en las cuales se ha logrado establecer esta técnica (Murashige y Huang, 1987; citado por Murillo, 2014).

3.17.3 Conservación de germoplasma

El mantenimiento de bancos de germoplasma es una necesidad para los programas de mejoramiento genético cuando este sea necesario. El cultivo in vitro ofrece una serie de ventajas para la conservación tales como el reducido espacio necesario para almacenar un gran número de genotipos, el material puede ser saneado de patógenos y mantenido libre de estos, siendo posible multiplicar rápidamente cuando es necesario, lo que permite disponer de las plantas en el momento deseado (Kantha, 1981).

3.18. Micropropagación

Se entiende por micropropagación a cualquier procedimiento aséptico que comprenda la manipulación en plantas, de órganos tejidos o células que produzcan poblaciones de plántulas y que permitan el desvío tanto del proceso sexual normal como de la propagación vegetativa no aséptica que se practica convencionalmente (Murillo, 2014).

Según Medina (2005), la micropropagación consiste en tomar células o tejidos de la planta, preferiblemente de origen meristemático, que se encuentran en las yemas. Lo que se hace en el laboratorio es programar esas células para que formen tallos, luego se multiplican esos tallos y se aplica un programa de enraizado, es decir, se cambian las condiciones hormonales para que forme raíz. Una vez que la planta está completa y que puede absorber nutrientes por raíz, se lleva a un invernadero.

Carrillo (2004), señala que esta técnica se usa para propagar plantas a partir de plantas madres por lo que las plántulas obtenidas son idénticas a la planta madre.

Hartmann y Hudson (1997), Indica que la propagación mediante cultivo in vitro se caracteriza por las tasas potencialmente altas para multiplicación de clones que pueden lograrse en un tiempo relativamente corto las tasas teóricas mencionan que de una plantita multiplicada geométricamente se puede predecir llegar a un millón plantitas en 6 meses (con una tasa de 10 cultivos mensuales). Pero en la práctica se ha obtenido de 1 a 3 millones de plantas de Helecho, fresa, lirio y orquídeas.

La micropropagación consiste en la propagación de plantas en un ambiente artificial controlado, empleando un medio de cultivo adecuado. El cultivo es así una herramienta muy útil en los programas de mejoramiento, ya que tiene el potencial de producir plantas de calidad uniforme a escala comercial, a partir de un genotipo selecto y con una tasa de multiplicación ilimitada. Esto es posible gracias a la propiedad de totipotencia que tiene las células vegetales; esto es la capacidad de regenerar una planta completa cuando están sujetas a los estímulos adecuados (INTA, 2010).

Espinoza (2013), menciona que la propagación in vitro, también denominada micropropagación, es la aplicación más completa de cultivo de tejidos, de mayor impacto y más ampliamente utilizado en todos los laboratorios de biotecnología vegetal. Consiste en producir plantas conformes a la planta madre por las estimulaciones de capacidades naturales de multiplicación vegetativa de la especie por la inducción de una nueva organogénesis de brotes y raíces. La micropropagación aplicación en la multiplicación rápida de variedades nuevas o introducidas recientemente, o en aquellas especies que tienen un bajo porcentaje de reproducción, también es usado ampliamente en programas de mejoramiento genético.

3.18.1 Ventajas de la Micropropagación

Murillo (2014), las siguientes ventajas que presenta la micropropagación *in vitro*.

- **Mayor rapidez en la introducción de productos** La micropropagación puede introducir un producto en el mercado más rápidamente que los métodos comerciales: selección individual de las plantas elites, altos coeficientes de propagación, uniformidad en las plantas producidas, elevada producción en espacios reducidos.
- **Mayor calidad del producto** El valor del producto se incrementa como consecuencia de: plantas libres de enfermedades, mejoramiento del fenotipo de las plantas.
- **Mayor facilidad en la comercialización** La comercialización de las plantas micro propagadas se facilita debido a: flexibilidad en la forma del producto, facilidades en la transportación y embarque, producción durante todo el año.

3.18.2 Factores Limitantes de la Micropropagacion

- **Costo de producción relativamente alto** La micropropagación a un requiere un alto componente de mano de obra altamente calificada. Por tanto los costos en muchas especies son más altos que los métodos convencionales como la producción de esquejes y la propagación por semillas. La mano de obra puede representar hasta un 70 por ciento del costo final, la producción en países con mano de obra más barata es solo una solución temporal, se necesita métodos con costos reducidos.
- **Aparición de plantas fuera de tipo** Aun cuando la micropropagación es una tecnología de clonación, pueden ocurrir mutaciones durante las distintas etapas del proceso, aunque la variabilidad es siempre un riesgo en este método.

- **No es aplicable a todos los cultivos** No todos los cultivos pueden ser comercialmente propagados por micropropagación a los niveles actuales de esta tecnología. Aunque existen muchos reportes científicos en un variado número de especies, estos aún no están listos para su aplicación a escala comercial y en otros cultivos ningún sistema de regeneración ha sido desarrollado hasta el momento, lo cual limita la aplicación de esta tecnología.

3.19. Fases de la Micropropagación

3.19.1 Fase 0 selección del material vegetal

Espinoza (2013), menciona que esta fase es de suma importancia para garantizar el éxito del proceso de micropropagación, en esta etapa se selecciona el material vegetal que se utiliza como material de partida o fuente de explante. Debe provenir de plantas sanas y vigorosas, escogiendo aquellas plantas que se destaquen en la población a fin de garantizar la propagación de un material con la mayor calidad desde el punto de vista genético y sanitario.

Inicialmente, esta fase fue concebida para tratar de reducir los problemas de contaminación que presentan comúnmente en la Fase I (Debergh y Maene,1981).

Sin embargo en la actualidad existe un consenso de que esta etapa es importante e indispensable para el desarrollo de un esquema de micropropagación eficiente y repetible, por lo que cada vez se la va prestando mayor importancia. Tiene una marcada influencia sobre la calidad posterior de las plantas resultantes del proceso tanto desde el punto de vista sanitario, fisiológico como genético (Pérez ,1998; citado por Murillo, 2014).

La iniciación de un proceso de micropropagación solo tiene sentido cuando se emplea un material adecuado. La constitución genética de la planta es el primer factor

relacionado con la frecuencia de variantes somaclonales resultante del proceso de propagación (Evans y Bravo, 1985).

Pérez (1998), indica que en plantas ornamentales es común que la selección se realice sobre plantas micropropagadas las cuales son cultivadas en condiciones controladas (invernaderos) o áreas aisladas, lo cual evita una serie de riesgos, facilita la reimplantación in vitro y además mejora el proceso de selección. El estado fisiológico de la planta que dona el explante es de gran influencia en la respuesta de los tejidos en cultivo, reportándose diferencias en los requerimientos nutricionales y hormonales cuando los tejidos provienen de plantas con diferentes edades fisiológicas. Generalmente se utilizan plantas en estado de crecimiento activo que muestran un desarrollo vigoroso y sano.

3.19.2 Fase I Establecimiento

El objetivo de esta etapa es lograr el establecimiento de cultivos axénicos y fisiológicamente vigorosos con los cuales iniciar el proceso de multiplicación (Pérez, 1998). Los explantes tomados de plantas jóvenes o zonas de crecimiento activas tienen un mejor desarrollo que aquellos tomados de plantas adultas o yemas en reposo. A medida que es más joven y menos diferenciado el tejido que se va implantar, mejor será la respuesta in vitro. El tamaño del explante es un factor importante que influye en la desinfección y regeneración de las plantas, a medida que el explante es más pequeño es menor el riesgo de contaminación y más difícil la regeneración, mientras que con el aumento del explante es mayor el peligro de contaminación y más rápido el crecimiento y la regeneración de plantas (Villalobos y Garcia, 1982).

Es posible utilizar una gran variedad de explantes para iniciar los cultivos in vitro, sin embargo para los fines de propagación comercial se emplean generalmente meristemas o ápices. La utilización de uno u otro tipo de explante depende de los objetivos de la propagación, si el objetivo es plantas libres de virus o enfermedades sistémicas es necesario la utilización de meristemas, pero si por el contrario el objetivo es solamente

la multiplicación de semilla y no hay peligro de diseminación de enfermedades o separe de plantas diagnosticadas, es frecuente el empleo de ápices caulinares debido a que la manipulación y la regeneración de plantas es más fácil (Villalobos y García, 1982).

El objetivo de esta fase es obtener un cultivo aséptico de la especie que se requiere multiplicar, el establecimiento incluye la desinfección y siembra del explante en condiciones asépticas en medios de cultivo, esta fase termina con la obtención de un cultivo libre de contaminación visibles y suficientemente adaptadas a las condiciones *in vitro* (Espinoza, 2013).

3.20. Explante

Moya (2001), menciona que el explante se refiere a cualquier parte vegetal que ha sido separada de la planta, que puede ser un tejido (fragmento de hojas, tallos, raíces completas, etc.), estructuras como las anteras y los ovarios, o bien células individuales (como en el caso de los protoplastos). Con excepción de los óvulos y el polen, los explantes están constituidos por tejidos y/o células somáticos. Los explantes tomados de plantas jóvenes o de zonas de crecimiento activas tienen un mejor desarrollo que aquellos tomados de plantas adultas o yemas en reposo. A medida que es más joven y menos diferenciado del tejido que se va implantar, mejor será la respuesta *in vitro*.

El tamaño del explante es un factor importante que influye en la desinfección y regeneración de las plantas, a medida que el explante es más pequeño es menor el riesgo de contaminación y más difícil la regeneración, mientras que con el aumento del tamaño del explante es mayor el peligro de contaminación y más rápido el crecimiento y la regeneración de la planta (Villalobos y García, 1982).

Murillo (2014), indica que la selección de un adecuado explante inicial determina mejores resultados en la regeneración o formación de las plantas *in vitro*. La sección de tejido utilizada varía en dependencia de las características morfológicas de las

diferentes especies, como regla general, se toma las yemas del tallo principal y de los brotes axilares de las plantas.

3.21. Medios de cultivo

Espinoza (2013), se da el nombre de medio de cultivo al sustrato artificial de composición completa, utilizado para el crecimiento y desarrollo de las vitroplantas.

Según González (2003), el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) para el normal desarrollo de una planta se ha empleado de una manera muy general para todos los tipos de cultivo "*in vitro*". Además, puede afirmarse que ha sido la utilización del medio MS, junto con el empleo de fitohormonas apropiadas (citoquininas y auxinas), lo que ha permitido el éxito de los trabajos sobre organogénesis en cultivo "*in vitro*".

Para el cultivo de meristemas y ápices no existe un medio universal, sin embargo el medio basal propuesto por Murashige y Skoog (1962) con algunas modificaciones en sus ingredientes ha sido el más frecuentemente utilizado, reportándose su utilización en la mayoría de las especies propagadas *in vitro* (Kantha, 1981).

Hurtado y Merino (1994), indica que el éxito que se obtenga en cultivos vegetales dependerá del uso del medio adecuado, empleo de tejidos viables, incubación, calidad de reactivos, etc. Usando las sustancias químicas necesarias y las combinaciones apropiadas donde los medios de cultivo se componen de los siguientes ingredientes: sales inorgánicas, compuestos orgánicos, complejos naturales y materiales inertes de soporte.

El medio de cultivo permite de forma artificial y bajo condiciones estériles puedan vivir y multiplicarse células, tejidos y órganos separados del tejido que les dio origen. Los medios de cultivo contienen macronutrientes, micronutrientes, además de carbohidratos, usualmente la sacarosa puede remplazar el carbono que la planta normalmente fija en la atmósfera por medio de la fotosíntesis y compuestos orgánicos

en pequeñas cantidades como vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento (Espinoza, 2013).

3.22. Composición el medio de cultivo

Los medios de cultivo deben ser preparados con sumo cuidado, ya que los diversos productos que los conforman intervienen en cantidades pequeñas. Un adecuado medio de cultivo debe tener sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento, aminoácidos y otros elementos inorgánicos los que varían ampliamente respecto a su composición y concentración. Los ingredientes del medio de cultivo se pueden clasificar en: sales inorgánicas, compuestos orgánicos, complejos naturales y materiales inertes de soporte (Murillo, 2014).

3.22.1 Sales inorgánicas

Se dividen en macro y micro nutrientes, esta división se basa en la cantidad que absorben las plantas ciertos elementos: calcio, magnesio, potasio, nitrógeno, fósforo y azufre son requeridos por las plantas en grandes cantidades (g/l) y se les llama macronutrientes. Otros como el hierro, magnesio, boro, cobre, zinc, molibdeno y cloro, se requieren en pequeñas cantidades (mg/l o ppm) y se llama elementos traza o micronutrientes (Barba, 2001).

Murillo (2014), Para un rápido y vigoroso crecimiento, las plantas necesitan tomar del medio de cultivo cantidades relativamente grandes de algunos iones inorgánicos llamados macronutrientes y cantidades pequeñas o traza de otros llamados micronutrientes.

3.22.2 Compuestos orgánicos

Los compuestos orgánicos se clasifican en cuatro grupos importantes: carbohidratos o fuentes de energía, sustancias hormonales, vitaminas y aminoácidos (Espinoza, 2013).

Hurtado y Merino (1994), indican que se clasifican en tres grupos: carbohidratos, sustancias hormonales y vitaminas. Frecuentemente se ha obtenido buenos resultados cuando se emplean también ciertos aminoácidos y/o amidas, algunas purinas, pirimidinas, hexitoles y ácidos orgánicos.

3.22.3 Fuentes de carbono

La sacarosa es la fuente de carbono más ampliamente utilizada y se emplea a una concentración de 2-4 por ciento. Ocasionalmente se utilizan otros carbohidratos como la glucosa en cultivos de monocotiledóneas, así como la fructosa, almidón, lactosa, maltosa, sorbitol, manitol y galactosa en otras especies; pero esos compuestos son inferiores a la sacarosa como fuente de carbono. La sacarosa puede ser sustituida por azúcar refinada que también genera óptimos resultados (Murillo, 2014).

Según Espinoza (2013), el compuesto más usado como fuente de energía es la sacarosa considerada esencial en los medios de cultivo, se puede usar también otros carbohidratos como la glucosa, fructosa, lactosa, sorbitol y el azúcar común, es recomendable usar azúcar morena porque mientras menos procesada sea el carbohidrato menos contaminación existe en los medios de cultivo.

3.22.4 Reguladores de crecimiento

Hurtado y Merino (1994), señala que los principales reguladores de crecimiento son las auxinas, citoquininas y giberilinas las mismas se describen a continuación.

k) Auxinas Soberón et al., (2005), afirma que las auxinas promueven el crecimiento en tallos. Causan la formación de raíces adventicias, inhiben el crecimiento en raíces en concentraciones bajas. Promueven la dominancia apical, favorecen la floración, inducen la diferenciación vascular, retardan la abscisión de hojas, flores y frutos jóvenes, estimulan la formación de raíces adventicias de tallos y hojas.

Espinoza (2013), menciona que las auxinas ayudan a la elongación de las células, entre ellas tenemos la auxina natural AIA (Ácido indolacético) y las auxinas artificiales ANA (Ácido naftalenacético), IBA (Ácido indolbutírico), PCPA (Ácido p-clorofenoxiacético), 2,4-D (Diclofenoxiacético), siendo esta la más importante y mundialmente usada en los medios de cultivo para las células y tejidos con finalidad de obtener callos porque ocasionan un crecimiento desorganizado en las células y el más débil es el AIA por que fácilmente es inactivado por la luz, los tejidos con alta actividad y es considerado un compuesto termolábil porque reacciona con temperaturas altas.

La concentración de las auxina utilizadas varía desde 0.1 – 10 mg/l siendo el rango más empleado el comprendido entre 0,25 – 3 mg/l, la actividad auxínica en células cultivadas se considera de la siguiente manera 2,4-D>ANA>IBA>AIA (Murillo, 2014).

kk) Citoquinina o Citocininas Soberón et al. (2005), menciona que las citoquininas son un grupo de hormonas que regulan la división celular. Derivan de la adenina o de aminopurinas. Las diferentes cadenas laterales se unen al nitrógeno del carbono 6. Pueden presentarse como: bases libres (que constituyen las formas activas de las citoquininas), o bien ribonucleósidos, ribonucleótidos y glicósidos. La primera citocinina natural aislada fue la zeatina [N-(4-hidroxi-3-metil-2-butenil) aminopurina].

Son consideradas citoquininas aquellas sustancias químicas que pueden estimular principalmente la división celular citocinesis. (Espinoza, 2013).

Murillo (2014), indica que las posibles respuestas con citocininas son: división celular, inducción a la formación de tallos y proliferación de yemas axilares, inhibición de la formación de raíces.

Espinoza (2013), casi todas las citoquininas son sintéticas y derivadas de la adenina dentro de este grupo se encuentra la kinetina (6-furturil amino-purina), BAP (6 benzil amino-purina), Zip (6 dimetil alil purina), y la zeatina (6 hidroxil 3 metil, 2 bunetil) adenina, esta última es considerada citoquinina natural porque es extraída del endospermo del maíz. Las citoquininas realizan su efecto incrementando la división celular, dicha acción está relacionada con la presencia de auxinas.

Portillo (1999), menciona que las citoquininas son utilizadas en concentraciones que varían según la especie, pero generalmente se usan en concentraciones de 0,03 a 30 mg/l.

kkk) Giberelinas Otro regulador de crecimiento es el Ácido Giberélico (AG3), aunque no tiene un uso muy amplio pero si es esencial en el cultivo de meristemas en algunas especies de plantas como la micropropagación con medios líquidos de vitroplantas de papa, banano y totora. (Espinoza, 2013).

Sandoval (2001), indica que las giberelinas son sintetizadas en los primordios apicales de las hojas, en la punta de las raíces, en los frutos, tejidos jóvenes y semillas en desarrollo. Esta hormona induce el crecimiento del tallo, regulación de la transición entre la fase juvenil y adulta, inducción a la floración y la determinación sexual de la flor, inducción de la germinación a demás además de promover la elongación internodal.

3.22.5 Agentes gelificantes

La mayoría de los medios utilizados incluye un gelificante que impida que el explante se sumerja en el medio. Generalmente se utiliza Agar- Agar en concentraciones de 6-8 g/L o Gelrite en concentraciones de 1,5 – 3 g/L (Seemann, 1993).

En general las sustancias nutritivas empleadas en los medios de cultivo, son gelificantes con agar, el cual forma un complejo coloidal con débil poder de retención iónica (Mangara, 1988; citado por Weldt, 2008).

Según Ibrahim (1994), el Agar- Agar es el agente gelificante más utilizado en los cultivos in vitro, ya que presenta numerosas características deseables, las cuales son, claridad, estabilidad y ser un agente inerte.

Espinoza (2013) indica que desde hace mucho tiempo atrás, los medios de cultivo han sido gelificados con agar, un compuesto extraído de algas marinas del género Gelidium. El agar se ha convertido en el material de soporte más ampliamente usado, pues provee al medio un excelente gel húmedo que sirve como soporte. La concentración de dichas sustancias está determinada generalmente por la calidad del agar, este añadido al medio de concentración de 6 a 9 g/l para medios sólidos y 2 a 4 g/l para medios semisólidos.

3.22.6 pH del medio de cultivo.

Seemann (1993), indica que el pH se debe regular antes de adicionar el gelificante y debe estar entre los valores 5 y 6,5, debido a que los valores menores o mayores pueden detener el crecimiento del explante.

Una vez ajustado el pH del medio, este sufrirá una ligera acidificación progresiva como el resultado de la absorción de algunos componentes del medio así como de la

excreción de exudados por parte del explante, pudiendo producir así la licuación del medio de cultivo (George y Sherrington1984).

3.22.7 Medios de conservación *in vitro*

-Manitol y Sorbitol Espinoza (2013), considera que el manitol y sorbitol penetran a la célula solamente en forma pasiva y lenta debido a que tienen seis grupos hidroxilicos, por lo tanto es presumible que estos compuestos, actúen como osmóticos externos.

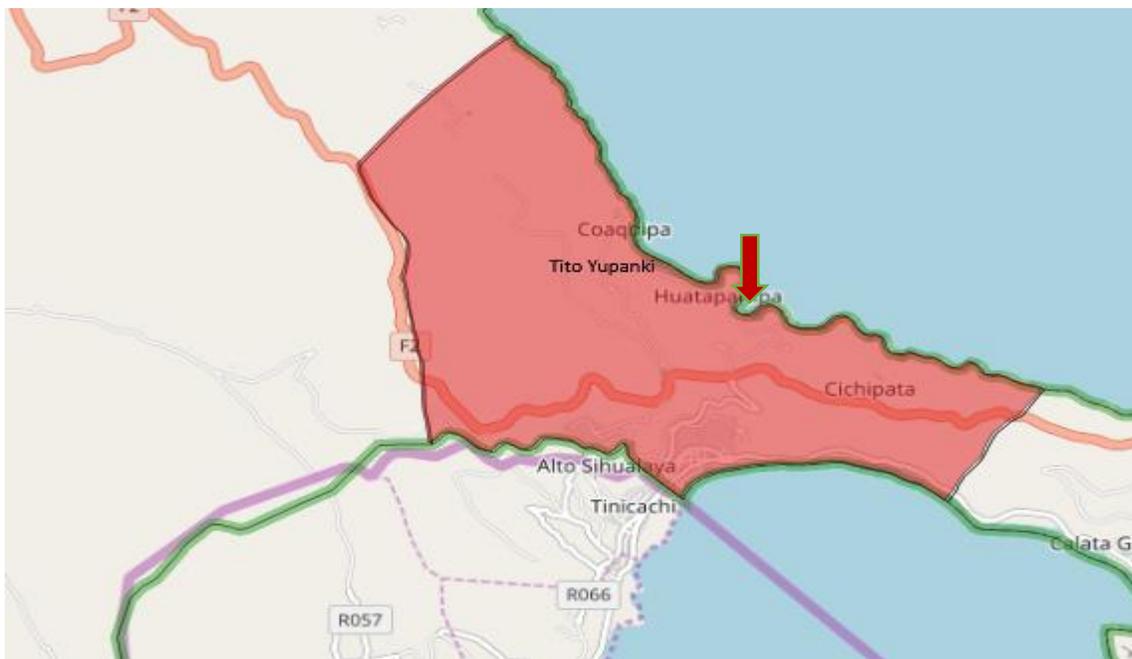
Sandoval (2001), reporta que el manitol se utiliza para el aislamiento de estafilococos en un entorno de laboratorio, inhibiendo el crecimiento de la mayoría de las bacterias con una alta concentración de sal, este es metabolizado rápidamente en la hoja y transporta en algunas formas específicas dentro de la célula de las hojas.

4. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la comunidad de Huatapampa, perteneciente al municipio de Tito Yupanqui, que se encuentra ubicado en el departamento de La Paz provincia Manco Kapac, con una Latitud: -16.1833 y una Longitud: -68.95, 16°10'60" sur y 68° 57'0" al oeste y a una altitud de 3959 m.s.n.m., y se encuentra a 95 kilómetro de distancia de la ciudad de La Paz (INE, 2012).



Figura 2. Ubicación del municipio de Tito Yupanqui



Latitud: -16.1833, Longitud: -68.95 Altitud: 3959 m.s.n.m
 16° 10' 60" Sur, 68° 57' 0" Oeste Provincia: Manco Kapac

Figura 3. Ubicación de la comunidad de Huatapampa

La parte *in vitro* se realizó en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Agronomía perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), ubicada en la ciudad de La Paz en la calle Héroes del Acre N° 1543 esquina Landaeta

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Materiales

5.1.1 Material vegetal

Para el presente trabajo se utilizó material genético de los diferentes ecotipos de papas nativas, de la comunidad de Huatapampa perteneciente al municipio de Tito Yupanqui.

5.1.2 Material de campo

- Un flexómetro
- Cinta métrica (50m)
- Picota, Pala, Chontilla
- Vernier (mecánico y digital)
- Cuaderno de registro, Lápices
- Yutes plásticos, y sobres manila
- Cámara fotográfica digital
- Descriptor para la variedad de papa (descriptor del tubérculo).

5.1.3 Material de Laboratorio

- Balanza electrónica analítica de precisión
- Cajas Petri
- Vernier
- Vasos de precipitado
- Espátula

- Agua destilada
- Papel secante
- Picetas
- Pinzas
- Pipetas
- Cuaderno de datos
- Reactivos Macro y Micronutrientes
- Hormonas de crecimiento
- Agar, myoinositol, sacarosa
- Autoclave
- Destilador de agua
- Cámara de flujo laminar
- Potenciómetro
- Refrigerador y congelador
- Agitador magnético
- Dispensador
- Parafilm
- Magentas
- Toallas de papel
- Guantes
- Barbijos

5.1.4 Material de gabinete

- Computadora con paquetes Word, Excel
- Material básico de escritorio
- Impresora
- Calculadora

5.2. Metodología

El método que se utilizó en esta investigación es exploratoria, descriptiva y explicativa, la toma de información se realizó bajo el siguiente proceso.

5.2.1 Trabajo de campo

En la comunidad de Huatapampa del municipio de Tito Yupanqui, se realizó la toma de datos semanales, de seguimiento al cultivo como días a la emergencia, fases de crecimiento, fase de elongamiento, fase de desarrollo, y posteriormente se recolecto muestras de tubérculos de papas nativas, donde a su vez se recabaron los conocimientos locales mediante entrevistas, charlas informativas, charlas en reuniones con las familias productoras de papa que estén conservando y consumiendo estas especies nativas. Para recabar la información sobre la calidad culinaria de la misma.

I) Entrevistas Se conformó una guía de campo que contenía preguntas, para recabar información en torno al tema de investigación, estas fueron aplicadas con las familias y personas clave como los dirigentes comunales y personas de la comunidad de Huatapampa.

II) Recolección de muestras y selección de tubérculos En la época de cosecha se realizó un recorrido de campo por la comunidad de Huatapampa, para poder adquirir muestras de tubérculos de papa en estado fresco que presentan variaciones en cuanto a la forma y color de la piel de las cuales se recolectaran diez tubérculos de tamaño medianos y grandes de cada ecotipo, evitando que los tubérculos se expongan al sol para evitar confusiones en color de la piel porque la radiación solar influye mucho. De todas las muestras se obtuvo un registro del nombre común y uso, las muestras se almacenaron en una caja con refrigerante por poco tiempo para evitar el cambio de temperatura y la radiación solar, luego fueron llevadas a laboratorio para la descripción morfológica.

5.2.2 Trabajo de laboratorio

En el laboratorio se realizó la descripción morfológica de los tubérculos tomando las siguientes características evaluativas como el color de la piel, color de la carne (pulpa), forma del tubérculo, número de ojos, la relación de largo y ancho. E introducción y conservación *in vitro*.

m) Descripción morfológica En la cosecha se obtuvo los tubérculos de papa, las cuales se lavaran en agua común con mucho cuidado, se secaran en sombra luego se procederá a describir la morfología utilizando los descriptores morfológicos de papa y guía de colores de Huamán (2008), se consideraron diez descriptores morfológicos.

Para determinar el color de piel y de la pulpa del tubérculo se utilizara la tabla de colores del RHS (1986) sugerida por Huamán (2008), que se muestran en el cuadro 3, y se realizara las descripciones con sus respectivos caracteres, los que se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Descriptores de color primario, intensidad de color predominante, color secundario y distribución del color secundario de la piel del tubérculo

a) Color primario o básico del tubérculo	b) Intensidad de color predominante	c) Color secundario del tubérculo	d) Distribución del color secundario de la piel del tubérculo
Es el color predominante la que cubre la mayor parte del tubérculo se determino por comparacion con la tabla de colores	Esta intensidad de color predominante del tubérculo se determino por comparacion con la tabla de colores	Es el color secundario del tubérculo se determino por comparacion con la tabla de colores	Es la dsitribucion del color secundario de la piel del tubérculo que se verifica con la figura 4.
1. Blanco crema	1. Claro	0. Ausente	0. Ausente
2. Amarillo		1. Blanco crema	1. Solamente en los ojos
3. Anaranjado		2. Amarillo	2. Solamente en las cejas
4. Marron	2. Intermedio	3. Anaranjado	3. Pigmentado en areas alrededor de los ojos (salpicado)
5. Rosado		4. Marron	4. Con manchas dispersas
6. Rojo		5. Rosado	5. Sin pigmentacion alrededor de los ojos y el resto del tuberculo es pigmentado (Como anteojos)
6. Morado Rojizo	6. Rojo		
7. Morado	3. Oscuro	7. Morado rojizo	6. Con manchas salpicadas
8. Morado Violeta		8. Morado	7. Muy pocas manchas
		9. Morado violeta	

Fuente Huamán, 2008

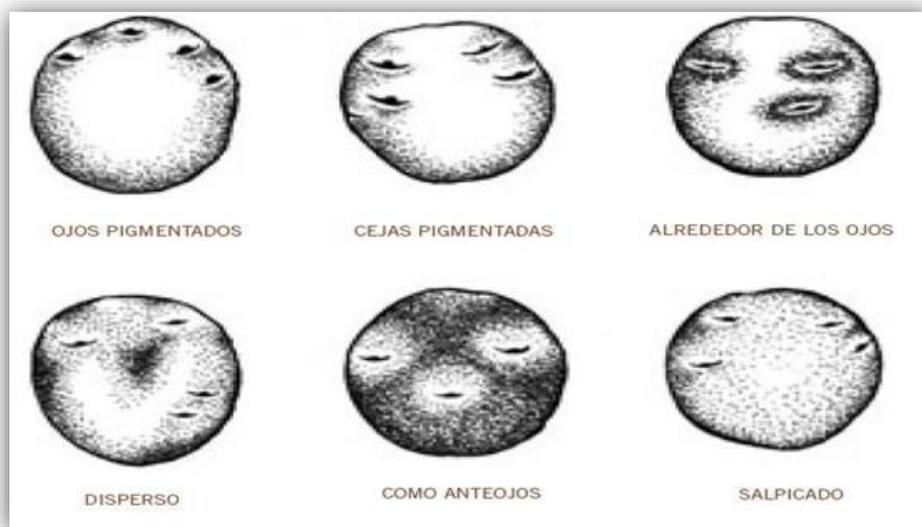


Figura 4. Distribución del color secundario de la piel del tubérculo

Para determinar el color de la pulpa o carne del tubérculo se realizó un corte transversal al centro del tubérculo con un visturi (estilete), donde se ha comparado con la tabla de colores la misma que fue utilizada para la piel del tubérculo, como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Tabla de colores básicos e intensidad de color del tubérculo

Color Básico del Tubérculo		Intensidad del Color		
		1	2	3
Blanco-crema	1	155D*	159D	159C
Amarillo	2	1B	7C	9A
Anaranjado	3	14B	21B	24B
Marrón	4	161B	163B	165B
Rosado	5	69B	75B	67D
Rojo	6	45C	46B	53A
Morado rojizo	7	N57A	61A	72A
Morado	8	N78A	77A	79C
Morado violeta	9	N88B	N89B	N92C

*Equivalente del RHS Color Chart

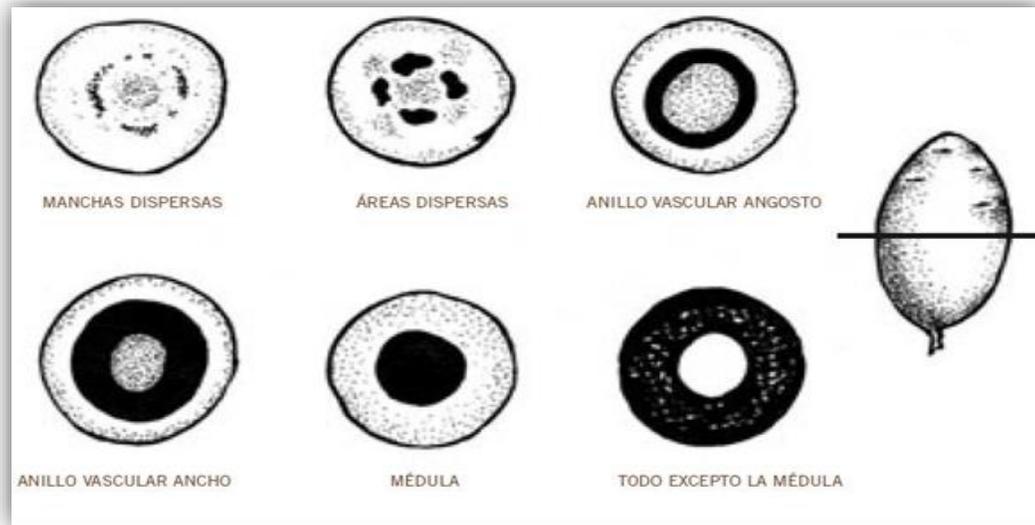
Fuente: Huamán, 2008

Cuadro 4. Descriptores de color primario, color secundario y distribución del color secundario de la pulpa (carne) del tubérculo

e). Color primario de la pulpa del tubérculo	f). Color secundario de la carne del tubérculo	g). Distribución del color secundario de la carne del tubérculo
0. Ausente	0. Ausente	0. Ausente
1. Blanco	1. Blanco	1. Manchas dispersas
2. Crema	2. Crema	2. Áreas dispersas
3. Amarillo claro	3. Amarillo claro	3. En un anillo vascular angosto
4. Amarillo	4. Amarillo	4. En un anillo vascular ancho
5. Amarillo oscuro	5. Amarillo oscuro	5. En un anillo vascular y en la médula
6. Rojo	6. Rojo	6. En toda la pulpa excepto en la médula
7. Morado	7. Morado	7. En manchas salpicadas uniformemente
8. Violeta	8. Violeta	

Fuente Huamán, 2008

Figura 5. Distribución del color secundario de la carne del tubérculo



Fuente Huamán, 2008

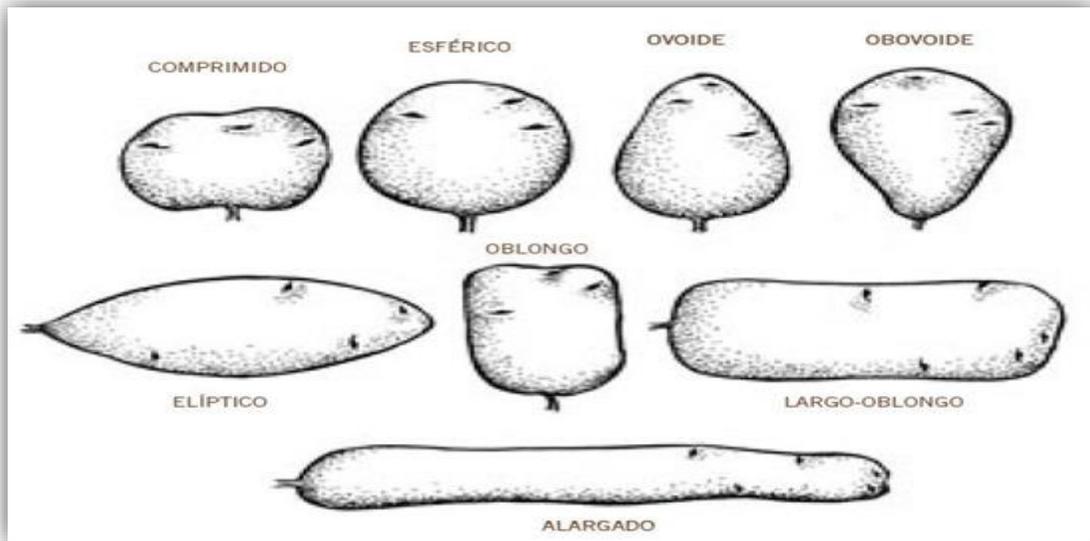
h). Forma del tubérculo La forma de los tubérculos fueron evaluadas según formas relacionadas en figura 3 y 4, aplicando los descriptores morfológicos de (Huamán, 2008). Las distintas formas de los tubérculos se muestran en el cuadro 5 que son:

Cuadro 5. Formas de los Tubérculos

h). Forma del tubérculo.	
1. Comprimidos	10. Clavado
2. Esfericos	11. Reniforme
3. Ovoides	12. Fusiforme
4. Obovoide	13. Falcado
5. Eliptico	14. Enroscado
6. Oblongo	15. Digitado
7. Largo oblongo	16. Concertinoide
8. Alargado	17. Tuberosado
9. Aplanado	

Fuente Huamán, 2008

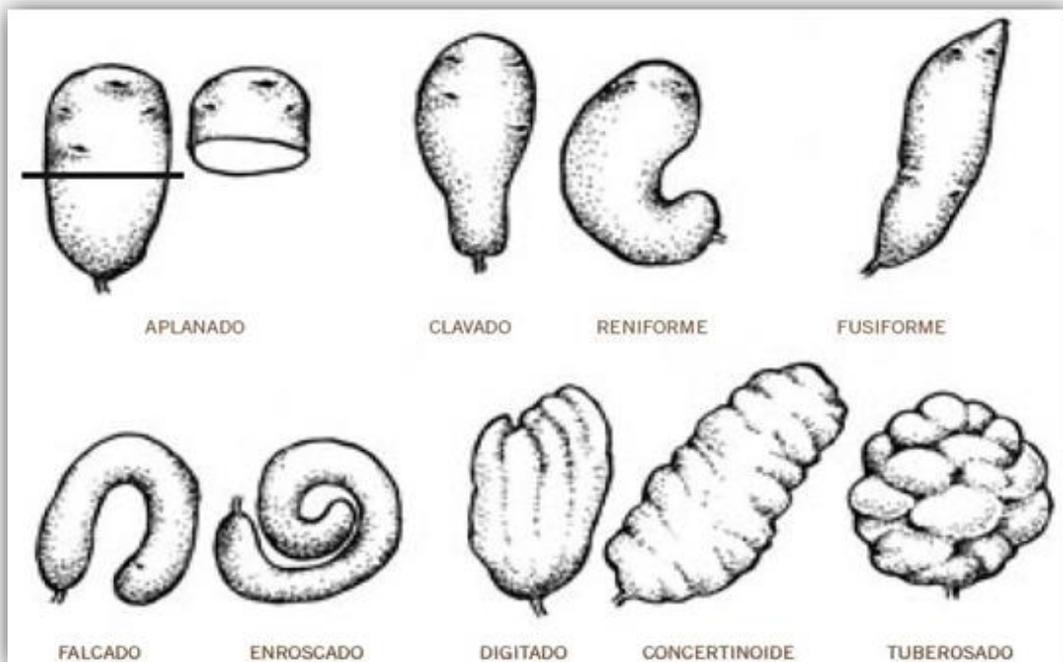
Figura6. Forma general del tubérculo



Fuente: Huamán, 2008.

Las siguientes formas que muestra la figura 7, son consideradas raras e inusuales

Figura7. Forma rara del tubérculo



Fuente: Huamán, 2008.

Cuadro 6. Descriptor de número y profundidad de ojos de los tubérculos

i). Número de ojos de los tubérculos	j). Profundidad de los ojos de los tubérculos
1. Muy pocos (<5)	Se determina con un corte longitudinal del tubérculo en la cavidad donde se ubican las yemas de tubérculos.
3. Pocos (5 a 7)	1. Protuberante o sobresalido
5. Intermedio (8 a 10)	3. Superficial (<2mm)
7. Muchos (>10)	5. Ligeramente profundo (2 a 4mm)
	7. Profundo (5 a 6mm)
	9. Muy profundo (>6mm).

Fuente Huamán, 2008

n) Calidad culinaria Para evaluar la calidad culinaria de los tubérculos de las especies amargas se determinó el tiempo de cocción y la evaluación de características organolépticas, en tubérculos frescos.

-Tiempo de cocción Las papas fueron lavadas y colocadas en mallas individuales con respectivas codificaciones, estas papas no han sido peladas, fueron colocadas a hervir en 2,5 a 3 litros de agua sin sal a 86 °C, con un tiempo de cocción controlado para todas las variedades de esta forma se pudo determinar la variabilidad del tiempo de cocción en cada uno de ellas.

-Evaluación organoléptica Para este trabajo se utilizó el método de análisis sensorial principalmente descriptivo y cualitativo, utilizando una escala de evaluación para cada atributo y un panel de tres jueces consumidores de papa y entrenados. La escala utilizada para medir los distintos atributos consta de cinco caracteres con una escala de valores de pésimo a excelente.

A cada juez degustador se le dio una planilla de valoración y una guía de caracteres evaluados como se muestra en el cuadro 8, con sus respectivas ponderaciones, todos

los evaluadores realizaron la degustación de un tubérculo por cada variedad, neutralizando el sabor que queda en el paladar con la ingesta de una mezcla de agua y phasa.

Cuadro 7. Caracteres evaluadores de papa para la degustación

Caracteres evaluados en papa cocida					
Color	Sabor	Textura	Dureza	Adhesividad	Grado de harinosidad
1. Blanco.	1. Neutro	1. Fino	1. Blando	1. No pegajoso	1. No harinoso
2. Blanco grisaseo	2. Poco amargo	2. Moderadamente fino	2. Firme	2. Poco pegajoso	2. Ligeramente harinoso
3. Blanco amarillento	3. Amargo	3. Basto	3. Duro	3. Pegajoso	3. Harinoso
4. Amarillo palido	4. Muy amargo	4. Bastante basto		4. Muy pegajoso	4. Muy harinoso
5. Amarillo				5. Muy muy pegajoso	
6. Amarillo intenso.					
7. otros.					

Fuente Huamán, 2008

o) Conservación *in vitro* La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. La micropropagación o propagación clonal, es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas

genéticamente idénticas, denominadas clones. El explante más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas vegetativas de las plantas. Los frascos que contienen las plantas se ubican en estanterías con luz artificial dentro de la cámara de crecimiento, donde se fija la temperatura en valores que oscilan entre los 21 y 23°C, además de controlar la cantidad de horas de luz. Como se muestra en la figura 8. Por su parte, el medio de cultivo se compone de una mezcla de sales minerales, vitaminas reguladores de crecimiento, azúcar, agua y agar. La composición del medio depende de la especie vegetal y de la etapa del proceso de micropropagación.



Figura 8. Estante con luz artificial de muestras de cultivos *in vitro*

Dentro del proceso de micropropagación diferenciamos varias fases o etapas:

- **0: Selección y Preparación de la planta madre** El objetivo de este es el de mejorar la eficiencia en la implantación y el desarrollo posterior de los cultivos *in vitro*.

- **1: Desinfección de las yemas de la planta y/o desinfección de semillas** El objetivo de esta fase es establecer cultivos axénicos y viables con los cuales iniciar el proceso de propagación.
- **2: introducción del material seleccionado in vitro** Es considerada la etapa más importante del proceso donde se debe garantizar la propagación de los brotes y a estabilidad genética de las plantas producidas.
- **3: Enraizamiento** Su objetivo es preparar sus plántulas para su establecimiento en condiciones de suelo.
- **4: Aclimatación** Es la fase final de proceso y por tanto su meta es lograr plantas listas para su trasplante definitivo a campo comercial de producción, casa de vidrio o invernadero.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización Agronómica de los ecotipos de papas nativas

En el cuadros 8, se presenta una descripción de los ecotipos de papas nativas de sus días a la emergencia, días a la floración, días a la formación del fruto, días a la tuberización y días para la cosecha, datos que fueron obtenidos mediante información de los pobladores en la comunidad de Huatapampa y mediante seguimiento y observación del cultivo.

Cuadros 8. Caracterización Agronómica de los ecotipos de papas nativas

Ecotipos	días a la emergencia (después de la siembra)	días a la floración	días a la formación de frutos	días a la tuberización	días para la cosecha
Imilla negra	25 días	74 días	100 días	120 días	150 días
Pinta Yari	32 días	88 días	110 días	125 días	160 días
Janc'u sacampaya	35 días	80 días	105 días	130 días	155 días
W'ila sacampaya	35 días	80 días	105 días	130 días	155 días
Q'ati señorita	32 días	70 días	96 días	140 días	160 días
Q'ati añahuaya	32 días	68 días	98 días	140 días	160 días
Lu'ki chuqipitu	50 días	90 días	110 días	145 días	170 días
Yari	30 días	80 días	105 días	125 días	160 días
Arbolona (carlitos)	45 días	92 días	110 días	145 días	170 días
Sacampaya morada	35 días	80 días	105 días	130 días	155 días

Fuente; Propia, 2018

Los ecotipos del (Cuadro 8) varían en cuanto a los días a la emergencia, días a la floración, días a la formación del fruto, días a la tuberización y días para la cosecha, donde se muestra una clara diferencia en ecotipos como la Imilla negra que es una variedad precoz a diferencia del ecotipo Arbolona(carlitos) que es un ecotipo tardío, mientras que en ecotipos como Janc'u sacampaya, acampaya morada y wila sacampaya son de similar comportamiento, al igual que los ecotipos como Q'ati señorita, Q'ati añahuaya que son de igual similitud en sus características agronómicas y el ecotipo Luk'i chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), es de fenología tardía.

6.1. Características agromorfológicas de los tubérculos en los ecotipos de papas nativas

Dentro de los ecotipos de papas nativas existe una diversidad morfológica en las características de la forma y el color de la piel.

6.1.1. Descripción de la forma y el color del tubérculo

En el cuadros 9, se presenta la descripción de color de la piel y pulpa de los tubérculos y en el cuadro 10 se presenta la descripción de la forma de los tubérculos y la descripción de los ojos de las papas nativas.

Cuadro 9. Color de la piel y pulpa del tubérculo de papas nativas

Ecotipos	Color de la piel				Color de la pulpa		
	Color primario	Intensidad de color predominante	Color secundario	Distribución del color secundario	Color primario	Color secundario	Distribución del color secundario
Imilla negra	9. Negrusco	Ausente	3. Intenso oscuro	Ausente	2. Crema	Ausente	Ausente
Pinta Yari	2. Amarillo	1. Palido claro	8. Morado	4. Manchas dispersas	1. Blanca	Ausente	Ausente
Janc'u sacampaya	2. Amarillo	2. Intermedio	Ausente	Ausente	3. Amarillo claro	Ausente	Ausente
W'ila sacampaya	6. Rojo	1. Palido claro	2. Amarillo	5. Como anteojos	3. Amarillo claro	Ausente	Ausente
Q'ati señorita	2. Amarillo	2. Intermedio	Ausente	Ausente	2. Crema	Ausente	Ausente
Q'ati añahuaya	9. Negrusco	3. Intenso oscuro	Ausente	Ausente	3. Amarillo claro	Ausente	Ausente
Lu'ki chuqipitu	2. Amarillo	1. Palido claro	2. Amarillo	5. Como anteojos	1. Blanca	Ausente	Ausente
Yari	8. Morado	1. Palido claro	Ausente	Ausente	1. Blanca	Ausente	Ausente
Arbolona (carlitos)	9. Negrusco	3. Intenso oscuro	2. Amarillo	4. Manchas dispersas	3. Amarillo claro	Ausente	Ausente
Sacampaya morada	7. Rojo morado	3. Intenso oscuro	2. Amarillo	4. Manchas dispersas	2. Crema	8. Morado	5. anillos vasculares

Fuente; Propia, 2018

Los ecotipos del (Cuadro 9) varían en cuanto al color de la piel de los tubérculos y de color de la pulpa, los ecotipos Pinta yari, Janc'u sacampaya, Q'ati señorita, Luk'i chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), son similares en color primario de color amarillo, así como también en los ecotipos Imilla negra, Q'ati añahuaya, Arbolona(carlitos) son de similar descripción negruzcos, pero en, los ecotipos, wila sacampaya es de color roja, yari es de color morado y sacampaya morada es de color rojo morada, por lo que difieren de la descripción del resto.

En la intensidad de color predominante los ecotipos Janc'u sacampaya, Q'ati señorita, tienen una descripción intermedia, mientras que en los ecotipos Pinta yari, Luk'i chuqipitu, tienen una descripción pálido claro, en, los ecotipos Q'ati añahuaya, Arbolona(carlitos) y Sacampaya morada, son de color intenso oscuro, mientras que en el ecotipo Imilla negra se encuentra ausente. Estos resultados coinciden a su vez, con las características y descripciones de Oviedo (1995) y Muñoz y Estaña (2012), Tapia y Saravia (1997), Ochoa (2001).

Cuadro 10. Descripción de la forma del tubérculo

Ecotipos	Forma del Tuberculo		Descripción de los ojos	
	Forma general	Variante de forma	Profundidad de ojos	Numero de ojos
Imilla negra	1. Comprimido	Ausente	5. Ligeramente profundos	5. Intermedio
Pinta Yari	7. Oblonda alargada	8. Concertinada	5. Ligeramente profundos	3. Pocos
Janc'u sacampaya	8. Alargado	4. Fusiforme	3. Superficial	3. Pocos
W'ila sacampaya	8. Alargado	Ausente	3. Superficial	3. Pocos
Q'ati señorita	6. Oblonga	8. Concertinada	5. Ligeramente profundos	5. Intermedio
Q'ati añahuaya	5. Elíptica	3. Reniforme	5. Ligeramente profundos	5. Intermedio
Lu'ki chuqipitu	2. Redonda	Ausente	5. Ligeramente profundos	3. Pocos
Yari	7. Oblonga alargada	8. Concertinada	3. Superficial	5. Intermedio
Arbolona (carlitos)	4. Ovabado	1. Aplanado	3. Superficial	5. Intermedio
Sacampaya morada	5. Elíptico	3. Reniforme	3. Superficial	3. Pocos

Fuente; Propia, 2018

En el Cuadros 10, existe una variabilidad de la forma y la profundidad de los ojos del tubérculo de una ecotipo a otro asimismo es variable entre los diferentes ecotipos estas características son importantes en la decisión de los consumidores ya que puede influir claramente en la pérdida de la pulpa en el momento del pelado. Dentro de los ecotipos, Jancu sacampaya, Wila sacampaya, Yari, Sacampaya morada , presentan ojos superficiales con una descripción de numero de ojos (pocos), esta característica hace

que tenga la facilidad en el pelado, mientras los ecotipos denominados Imilla negra, Pinta yari, Q'ati señorita, Q'ati ñahuaya, Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), presentan ojos ligeramente profundos y el número de ojos son intermedios, en cuanto a la forma del tubérculo existen variedades de forma obovoide, oblongo, alargados y curvados, aplanados, elíptica, redonda.

Estos resultados coinciden con las características que indica Bonifacio (1992), Ochoa (2001), Tapia y Frías (2007); en cambio Tapia y Saravia, (1997).

6.2. Usos de los ecotipos de papas nativas

La producción obtenida de papas nativas es reducida en la comunidad de Huatapampa y se destina principalmente al consumo familiar y en una mínima parte los excedentes se destinan a la comercialización en la feria local. La producción papas nativas se realiza mayormente en forma tradicional y en parcelas que a medida que pasan los años las parcelas son más reducidas, específicamente en las partes planas se está dejando de cultivar. Existen muchas causas para reducir el área cultivada de los ecotipos de papas nativas, como la migración de la población joven a las ciudades, también los hábitos de consumo actual de los consumidores, ya que el consumidor busca atributos de fácil preparación, ahorro de tiempo, hacen que elijan productos de fácil alcance, muchas veces sin cualidades nutritivas, así mismo la erosión de la diversidad de papas nativas causadas por las pérdidas de cultivos a causa de heladas fuertes, sequías y granizadas.

La mayoría de los agricultores utilizan semilla propia y los problemas que se presentan en los campos de cultivo, es la presencia de gusano blanco (larva de gorgojo de los Andes) presentándose antes que la papa alcance la madurez fisiológica, causando daños físicos en el tubérculo y dándole un aspecto de baja calidad para el consumo como para la comercialización.

6.2.1 Uso de las papas nativas en la alimentación

Las papas que presentan la forma de obovoide, oblongo, oblongo alargado comprimido indican que en su mayoría son más preferidos en cocción de papa qhati, y que son consumidas en platos como qhati con queso, qhati con charque, watia, Karachi frito como se muestra en la figura 9,



Figura 9. Uso de las papas nativas en la alimentación

Mientras los tubérculos que presentan las formas de clavado- aplanado, reniforme, alargado, aplanado, alargados, alargado y curvado, son preferidos en tunta, pero en la actualidad las familias los cultivan mezcladas y también las procesa mezcladas ya sea en chuño o tunta entre los tubérculos que presentan diferentes formas y colores. El chuño es consumido en phuthi acompañando con sopas de verdura, lagua de quinua, en meriendas (almuerzo a medio día), chicharrón, fricase y en chairó. Como se muestran en la figura 10.



Figura 10. Uso de la papa amarga Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), procesada en chuño

Los tubérculos de la papa amarga como la variedad Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), son consumidos en forma de chuño y tunta diariamente durante todo el año siendo una alimentación básica de los agricultores.

p) Uso de la papa amarga en la medicina tradicional Según el saber local, la papa amarga como la variedad Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), se emplea para aliviar la fiebre, para lo cual, las papas son cortadas en rodajas y se aplican al cuerpo como emplasto localizado otra forma es molida o machacada como también el almidón se toma con ayrampu y quitan la fiebre, tanto el jugo de papa amarga y el almidón es bueno para la gastritis. Es importante mencionar cuando se consume la papa amarga se siente más aliviado y no hace daño a las personas que están mal del hígado y vesícula, el agua de chuño de la papa amarga es bueno para los dolores reumáticos y la traspiración de la planta de los pies.

6.3. Conocimientos Tradicionales y método de tipo de selección de los tubérculos

Los agricultores seleccionan los tubérculos con varios criterios y conocimientos tradicionales de consumo y procesamiento posterior, como ser el tamaño grande (para sopa y mondada), mediano (para tunta), regular (para semilla), pequeño y menudo (para chuño).

Los agricultores consideran las papas de calidad a aquellos tubérculos de mayor tamaño, libre de enfermedades y daños físicos, variedades que tengan buena textura y sabor la cual muchas veces es influida por el tipo de suelo y el clima (heladas y granizadas) así mismo se le considera de buena calidad a aquellas variedades que se le pueden dar múltiples usos.

Los tubérculos previamente clasificados y según el destino al producto, se almacenan fuera de las casas y/o bajo techo. Cuando se almacenan fuera de la casa, se forman montones tipo cono y tapado con paja de espesor apropiado para la

conservación. Cuando se almacenan dentro los cuartos, los tubérculos son embolsados en bolsas de polipropileno. El periodo de almacenamiento como papa fresca es desde el momento de la cosecha hasta terminar de consumir, aproximadamente hasta el mes de Noviembre. Los ecotipos Yari, Q'ati señorita preferentemente con el trascorrir del tiempo adquieren un sabor dulce, estas papas almacenadas y relativamente endulzadas se consumen en forma de papa hervida que puede ser acompañada con mezcla de phasa.

Los agricultores indican que estos ecotipos tienen una temporada de preferencia para el consumo, en el año preferentemente su consumo es entre junio y julio (meses donde el frío es intenso) esta temporada se vuelven dulces es apreciado por su sabor.

Según los productores la papa amarga como Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), almacenada por mucho tiempo especialmente cuando ya brotan se vuelven muy amargas o picantes, y es consumida como la base de la alimentación durante todo el año.

Los tubérculos en estado fresco puede ser consumido en distintas formas como en sopas y mondadas o papas blancas (consiste en pelar y cocinar en forma de papa entera o en forma de bastones en la sopa y chairo) esta forma de preparación reduce considerablemente el sabor amargo en forma de qhati o hervido (papa cocida con cascara) otra forma de consumo es en wathia (la wathia puede ser cocida en horno de barro, en piedra y en tierra) la wathia de papa amarga aparentemente reduce los alcaloides y es menos amarga en comparación a papa hervida y durante la ingestión de q'ati y wathia son acompañadas de phasa, charque o queso, también es consumida en forma de qhachu chuño (papa congelada por una noche).

Los productores indican que al consumir tubérculos como la Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), en estado fresco no tienen ninguna dificultad ni sufren toxicidad más al contrario sienten alivio después del consumo en comparación con la papa dulce así

mismo aprecian el sabor característico de los tubérculos de papa amarga (Cadima et al. 2003).

En cambio Estrada (1992), Chávez (s. a) y Egúsquiza (2000) mencionan que las papas amargas por el mayor contenido de glicoalcaloides no son aptas para su consumo directo solo se consume deshidratada en forma de chuño negro o moraya, así mismo

6.4. Conocimientos ancestrales

6.4.1 Bioindicadores

Los saberes ancestrales de los agricultores andinos, están basados en la observación del medio ambiente, de la flora y fauna tanto domésticos como silvestres tienen plena vigencia hoy en día. Estas apreciaciones de las condiciones del clima varían según las zonas agroecológicas; además, las plantas, insectos, aves y animales son indicadores de condiciones locales y pueden variar incluso de chacra a chacra. Además tiene mucha importancia la observación de las características de luminosidad de las estrellas, como macroindicadores (Tapia y Fries, 2007).

En la comunidad de Huatapampa se puede observar los siguientes bioindicadores: Sank^oayu, Kariwa, Totorá, Liqi Liqi, Qiri Qiri, Lagarto, Corrida de toros, Lluvia y Qhutu, a continuación en el Cuadro 11, se describen las características de cada uno de los bioindicadores

Cuadro 11. Detalle de los Conocimientos Ancestrales de Características de los Bioindicadores

Tipo	Nombre	Indicador	Oportunidad de observación	Sitio de observación	Significado
Planta	Sank'ayu	Flor exuberante y grande	Septiembre-noviembre	Cerro	Momento apropiado para realizar la siembra.
	Kariwa	Abundancia de floración	Septiembre-noviembre	Pampa	Momento apropiado para la siembra
	Totora	Inicio de floración	Agosto	Orilla del lago	Inicio de la época de siembra
Insecto	Ticona	Ataque de ticona a la papa	Abril-mayo	Papa	Buena producción de quinua en el siguiente año
Ave	Liqi Liqi	Huevos con manchas grandes. Ubicación de los huevos.	Enero-febrero	Pampa	Buena cosecha. En si ma del surco llovera y debajo del surco no llovera.
	Qiri Qiri	Altura de la construcción del nido	Enero-febrero	Totora	Limita el nivel de agua del lago. Mientras mayor el tamaño del nido se tiene mayores precipitaciones
Animal	Lagarto	Colocado de huevos	Septiembre	Cerro y pampa	Momento apropiado para realizar la siembra.
	Corrida de toro	Es el sentido al cual corre el toro	Mayo	Comunidades	Buena producción para las comunidades ubicadas a orillas del lago si el toro corre en sentido del lago y mala producción si el toro corre en otros sentidos.
Climático	Lluvia	Sentido de donde vienen las lluvias	Septiembre-febrero	Cielo	Buena producción agrícola si la lluvia viene del Este. Y mala producción, si la lluvia viene del Oeste, Norte o Sur. Si la lluvia viene del lado en que sale el sol no llueve y se va, pero si viene del lado del lago si llueve.
	Qhutu	Tamaño de las estrellas	Junio	Cielo	Buena producción si las estrellas son grandes y mala producción si las estrellas son pequeñas.

Fuente; Propia, 2018

6.4. Criterios de Calidad Culinaria

Los ecotipos de papas nativas, fueron evaluados primero en el tiempo de cocción. Luego se complementó con la evaluación degustativa.

6.4.1 Tiempo de Cocción

En la figura 11, se presentan las variaciones del tiempo de cocción que presentan los ecotipos de papas nativas, en estado fresco (sin solear).

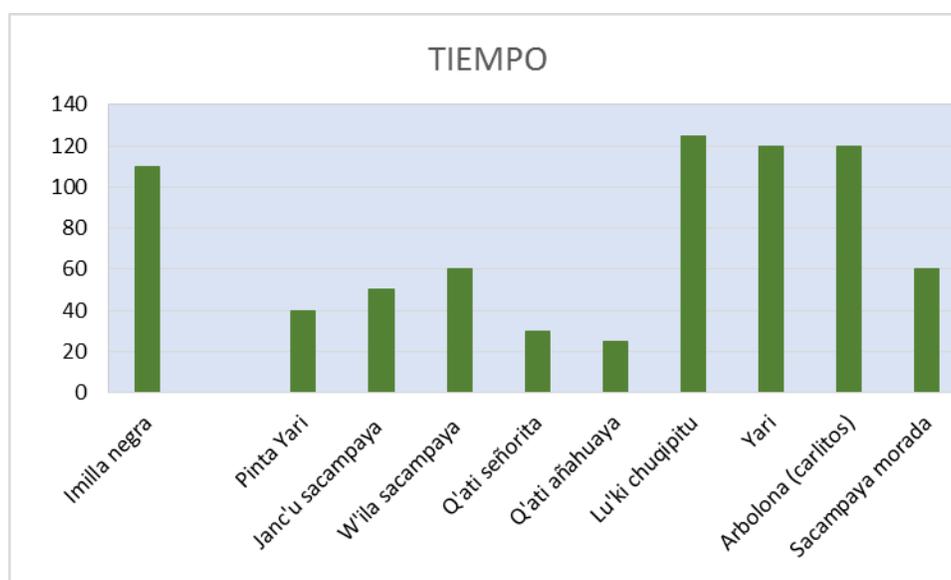


Figura 11. Tiempo de Cocción de Tubérculo en Estado Fresco

Los ecotipos como la Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), Yari y Arbolona, en estado fresco en promedio presentan un tiempo de cocción prolongada en un rango de una hora hasta una hora con 20 minutos. En el tiempo de cocción parece que influye el tipo de suelo en la que fue cultivada, presencia de heladas y granizada porque un ecotipo recolectado de diferentes lugares presenta ciertas variaciones en el tiempo de cocción, en ecotipos como Pinta yari, W'ila sacampaya Janc'u sacampaya, el tiempo de cocción mínimo esta entre 40-50 minutos llegando hasta un máximo de 1 hora. Y los ecotipos

Q'ati señorita, Q'ati añahuaya, Pinta yari presentan un tiempo de cocción mínimo, entre 20-40 minutos

6.4.2 Evaluación Degustativa

En cuanto a la evaluación degustativa de los ecotipos de papas nativas, en parámetro de mayor importancia en esta evaluación fue el sabor, ya que muchos autores mencionan que los tubérculos de papas nativas, en específico las papas amargas, Lu'ki Chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), no son aptos para el consumo en estado fresco por su sabor, pero también se evaluaron otros aspectos como la textura, dureza, harinosidad, adhesividad, los resultados en la figura 12, presentan variabilidades de dichos aspectos en cada ecotipo de papas nativas.

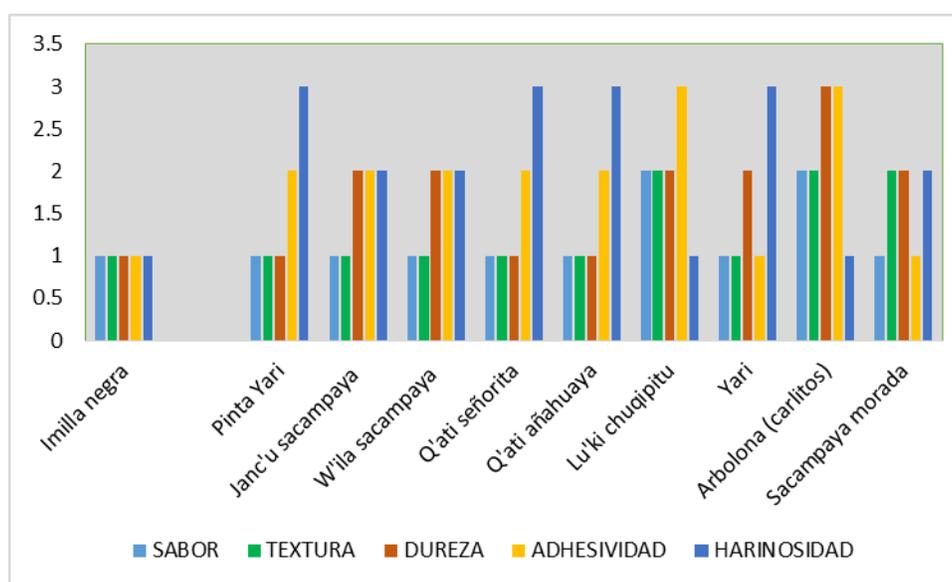


Figura12. Evaluación Degustativa de Ecotipos de Papas Nativas Hervidas de Tubérculos en Estado Fresco

Los ecotipos Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*) y Arbolona fueron evaluadas de sabor amargo mientras que las demás ecotipos son de sabor neutro y en su gran

mayoría los ecotipos son adhesivos, mientras que en los ecotipos Q'ati señorita, Q'ati añahuaya, Pinta yari, Yari, son harinosos así mismo estas características son variantes dentro de un ecotipo procedente de diferentes tipos de suelo, según los productores el sabor puede ser influenciada por el clima (helada, granizo) y por el tipo de fertilizante, en cuanto a la textura los ecotipos Imilla negra, Pinta Yari, Janc'u sacampaya, W'ila sacampaya , Q'ati señorita, Q'ati añahuaya son de textura fina.

6.5. Protocolo de Introducción procedimiento experimental

6.5.1 Fase Cero

En la fase cero se seleccionaron las condiciones físicas adecuadas para el desarrollo de las vitroplantas, se verifico el estado de sanidad de las muestras con la finalidad de que no influya en la obtención de buenos explantes.

La priorización de papas nativas se basó en la selección por condiciones físicas y estado de sanidad óptima (síntoma de contaminación fúngica, bacteriana), presencia de rugosidades, daños físicos u otro aspecto no deseable que influya en la obtención de brotes de buena calidad.

-Preparación del material vegetal Para la preparación del material vegetal se lavaron las muestras previamente después de haber sido recolectadas en campo, como se observa en la figura 13, posteriormente se lleva a la incubadora colocando las muestras recolectadas en cajas Petri, para que llegue a obtener brotes y así poder introducirlo en un medio de cultivo.



Figura 13. Lavado de las Muestras de Papas Nativas

6.5.2 Establecimiento del Material Vegetal a condiciones In Vitro (Etapa I)

-Preparación del Medio de Cultivo El medio elegido para la introducción y desarrollo del material vegetal de rosa será el medio basal de Murashige y Skoog (1962) según lo recomendado por Hurtado en el año 1994.

El medio de cultivo es uno de los factores de los que dependerá en gran parte el éxito del cultivo *in vitro* por su eficiencia y regulación en los procesos como la morfogénesis y el crecimiento de los tejidos cultivados (Portillo, 1999).

Para la preparación del medio de cultivo se procedió a pesar en una balanza analítica, como se observa en la Figura 14, todos los reactivos requeridos los cuales son: Medio basal Murashige Skoog, gelificante Agar, Sacarosa y el Myonositol, de acuerdo al requerimiento necesario de la cantidad de medio de cultivo a preparar para el trabajo de investigación.



Figura 14. Pesado de reactivos para la preparación del medio del cultivo

Una vez pesado los reactivos se introducen los mismos a un vaso de precipitado con un contenido de 100ml de agua autoclavada, donde se añade con una pipeta graduada los reguladores de crecimiento auxina ANA y la citoquinina BAP, posteriormente se afora la solución a 200ml con agua autoclavada como se muestra en la Figura 15.



Figura 15. Adición de Reguladores de Crecimiento y Aforado del Medio de cultivo.

Se realizó la medición de la acidez (pH) del medio de cultivo el mismo debe encontrarse estabilizado en un rango de 5,6 a 5,8. Si el pH se encontraba en un rango menor a 5,6 se le adicionaba hidróxido de sodio NaOH 0,1 Normal, si el pH se encontraba en un rango mayor a 5,8 se le adicionaba ácido clorhídrico HCl 0,1 Normal, una vez estabilizado el pH se le agrega el agente gelificante Agar, como se observa en la Figura 16.



Figura 16. Estabilización del pH.

Seguidamente se disuelve el agente gelificante Agar con la ayuda del agitador magnético, Disuelto el agar en la solución del medio de cultivo se lleva a un microondas con una potencia de 700 W durante un tiempo de 2 a 3 minutos hasta obtener una solución homogénea, se distribuye 15 ml de medio de cultivo a cada vaso de vidrio con la ayuda de un dispensador. Cada vaso que contiene medio de cultivo se tapa con papel aluminio y se sella con plastifilm para evitar cualquier tipo de contaminación fuera y dentro del autoclave. Posteriormente se realiza la correspondiente identificación de acuerdo a cada tratamiento como se observa en la Figura 17.



Figura 17. Tapado y Sellado de vasos con contenido de Medio de Cultivo.

Después de realizar el tapado y sellado e identificación correspondiente de cada vaso de vidrio que contienen medio de cultivo, se llevan al autoclave de presión de vapor como se observa en la Figura 18, a una temperatura de 121°C y 15 libras de depresión durante un tiempo de 10 minutos.



Figura 18. Autoclavado de Medios de Cultivo.

-Desinfección del material vegetal. Para la desinfección del material vegetal, las muestras deben ser lavadas con agua para retirar todas aquellas partículas que se encuentren alojadas en el material vegetal a desinfectar, retiradas las partículas se debe introducir el material vegetal en un frasco donde se agrega agua destilada autoclavada, y durante 5 minutos se debe agitar el frasco y posteriormente realizar el enjuague de las muestras.

La muestras serán llevadas a la cámara de flujo laminar de aire, donde se esterilizaran dentro de un vaso por inmersión, en una solución de alcohol de 150 ml al 70 % de concentración (v/v) durante 5 segundos agitándose de manera constante.

Pasado los segundos establecidos se retira el alcohol en otro recipiente, retirado el alcohol se debe añadir agua destilada y autoclavada para enjuagar y retirar los restos de alcohol que hayan quedado, seguidamente se lleva a sumergir las muestras durante 10 minutos en la solución de hipoclorito de sodio al 3% (v/v), como se observa en la Figura 19.



Figura19. Desinfección del material vegetal, por sumersión de las muestras en Alcohol e Hipoclorito de Sodio.

Después del tiempo establecido se enjuaga con agua destilada y autoclavada hasta retirar el hipoclorito de sodio, estos enjuagues con agua destilada y autoclavada se debe hacer tres veces por un tiempo de 3 minutos con la finalidad de retirar todo residuo de alcohol e hipoclorito de sodio usado.

- Introducción del Material Vegetal. Como se observa en la Figura 20, las muestras de brotes desinfectadas, juntamente con los medios de cultivo y el material de apoyo a usar para la siembra como, (mandil, barbijo, guantes, cajas petri, bisturís, mechero, sanitizador, pinzas y otros), serán llevados a la cámara de flujo laminar donde pasaran por esterilización con rayos U.V. durante 10 min.



Figura 20. Esterilización de los Materiales para la Introducción de Explantes

-Siembra de explantes Terminada la esterilización se procede a realizar la siembra de los explantes al medio de cultivo, se realizan cortes a los extremos basales de las muestras (brotes), debido al daño que sufrieron los tejidos por los agentes desinfectantes, con la ayuda de las pinzas se introducen las muestras a los vasos de vidrio que contienen medio de cultivo con la debida asepsia en el material que se está usando para la siembra, con la finalidad de evitar contaminación, como se muestra en la Figura 21, al finalizar la siembra los vasos de vidrio serán flameados a lo largo de los bordes superiores y serán sellados con plastifilm e identificados con los

tratamientos correspondientes, los mismos serán llevados a la sala de crecimiento o sala de incubación donde se cuenta con ambientes controlados mínimamente requeridos, con temperaturas de 25-27°C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad regulados por un temporizador analógico, como se muestra en la figura 22.



Figura 21. Siembra de explantes al medio de cultivo



Figura 22. Sala de crecimiento o sala de incubación

7. CONCLUSIONES

- En la comunidad de Huatapampa del Municipio de Tito Yupanqui, se identificaron 10 ecotipos de papas nativas de los existentes en el lugar, como ser: Imilla negra, Pinta Yari, Janc'u sacampaya , W'ila sacampaya, Q'ati señorita, Q'ati añahuaya, Lu'ki chuqipitu, Yari, Arbolona, Sacampaya morada.
- Por la metodología planteada se llegó a realizar la caracterización agronómica de los ecotipos de papas nativas, los cuales con los resultados obtenidos presentaron una igualdad en cuanto su comportamiento fenológico por lo que concluyo que si se requiere una variedad precos esta vendría a ser el ecotipo de papa imilla negra.
- Con relación a la caracterización agromorfológica, los ecotipos nativos varían en cuanto al color de la piel de los tubérculos y de color de la pulpa, 4 ecotipos como ser Pinta yari, Janc'u sacampaya, Q'ati señorita, Luk'i chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), son similares en color primario de color amarillo, así como también en 3 ecotipos Imilla negra, Q'ati añahuaya, Arbolona(carlitos) son de similar de descripción negruzcos, pero en ecotipos como wila sacampaya es de color roja, en yari es de color morado y en sacampaya morada es de color rojo morada, por lo que difieren de la descripción del resto.
- La variabilidad de la forma y la profundidad de los ojos de los tubérculos de una especie a otro varía entre los diferentes ecotipos, estas características son importantes en la decisión de los consumidores ya que puede influir claramente en la pérdida de la pulpa en el momento del pelado. Así que se concluye que dentro de esta característica los ecotipos nativos, Jancu sacampaya, Wila sacampaya, Yari, Sacampaya morada, presentan ojos superficiales con una descripción de numero de ojos (pocos), esta característica hace que tenga la facilidad en el pelado.

- Los Bioindicadores son de mucha importancia para los pobladores de la comunidad de Huatapampa para poder producir sus cultivos, de los cuales se pueden observar los siguientes bioindicadores: Sank'ayu, Kariwa, Totora, Liqi Liqi, Qiri Qiri, Lagarto, Corrida de toros, Lluvia y Qhutu.
- Los ecotipos Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*) y Arbolona fueron evaluadas de sabor amargo mientras que los demás ecotipos son de sabor neutro y en su gran mayoría los ecotipos son adhesivos, mientras que en los ecotipos Q'ati señorita, Q'ati añahuaya, Pinta yari, Yari, son harinosos así mismo estas características son variantes dentro de una ecotipo procedente de diferentes tipos de suelo.
- Según los productores el sabor puede ser influenciado por el clima (helada, granizo) y por el tipo de fertilizante, en cuanto a la textura los ecotipos Imilla negra, Pinta Yari, Janc'u sacampaya, W'ila sacampaya , Q'ati señorita, Q'ati añahuaya son de textura fina.
- En el protocolo de introducción en la preparación del medio de cultivo se deduce que: El tamaño de la muestra debe ser de aproximadamente 10mm de altura de los brotes, con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación, mientras más pequeña sea la muestra menor será el riesgo de contaminación y el ecotipo con mayor dificultad para la adaptación del medio de cultivo fue el ecotipo de papa amarga Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*).

8. RECOMENDACIONES

- Las papas nativas constituyen una riqueza de diversidad que es importante mantenerlas, con éste objetivo se recomienda hacer programas o proyectos con instituciones públicas o de convenio, de capacitación entre técnicos y productores locales con el fin de mantener *in situ* e *ex situ* estos ecotipos de papas nativas.

- El ecotipo Lu'ki chuqipitu (*Solanum juzepczukii*), es recomendable para el uso en industrias, en la elaboración de tunta o chuño.

- Se recomienda que en sectores concentrados de pobladores y animales, especialmente en las zonas bajas del lago titicaca, contar con sistemas de tratamientos de residuos sólidos, estos no deben ser depositados en las laderas cercanas al lago, esto ocasiona una contaminación ambiental, se deberá realizar programas de sensibilización y concientización sobre educación ambiental. Todo esto para evitar que se pierdan los bioindicadores que son de mucha importancia.

- Se recomienda continuar con una investigación de vitroplantas de ecotipos nativos de papas, para obtener plantas madres libres de enfermedades, y para la conservación de los ecotipos nativos de papa.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Akita, M. y Shigeoka, T. 1994. Mass Propagation of shoots of *Stevia rebaudiana* using a large scale bioreactor. *Plant Cell Reports*, 13:180-183.
- Bracamonte, R. 2001. La biodiversidad cultivada y su relación con la organización de la producción agrícola en la comunidad de Chilisaya, prov. Tapacari. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de ciencias agrícolas pecuarias, forestal y veterinaria. Cochabamba, Bolivia. p.11.
- Baena, M.; Jaramillo, S. 2000. Conservación ex situ de los recursos fitogenéticos. Ed. IPGRI. Cali, Colombia. p. 6 – 7, 9, 13, 62, 65.
- Baena, M.; Jaramillo, S.; Montoya, J. 2003. Conservación in situ de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas. Ed. IPGRI. Roma, Italia. pp. 14-63.
- Barba, A.2001. Micropropagacion de plantas. Editorial Trillas. Mexico. D.F. p. 7-53.
- Bonifacio, A; P. Ramos; Alcon M; Gabriel J. 2013. *Solanum x curtilobum* Juz. et Buk.: papa amarga cultivada con potencial para el mejoramiento genético. *BO*. 17 (2). 117-129.
- Bonifacio, F, A. 1992. Germoplasma de papa amarga y caracterización preliminar en el altiplano boliviano. In Mesa redonda Perú-Bolivia (1ra, 1991, La Paz, BO), Eds. Rea, J y Vacher, J J. La Paz. P: 27 - 31.
- Cadima, X. 2006. Tubérculos. En M. Moraes, et al. (ed.) *Botánica Económica de Los Andes Centrales*. UMSA. La Paz-Bolivia. pp. 347-369.
- Carrillo, E. 2004 Manipulación de plantas madres para el enraizamiento. Disponible en [http://www. elucas42@hotmail.com](http://www.elucas42@hotmail.com).
- Checa, C. O., Burgos, F. A. y L. Perez. 1998. Releza VI, Sexta Reunión de leguminosas de grano de la zona andina. Caracterización fenotípica de 133 accesiones de haba (*Vicia faba* L.) en el Centro de Investigaciones Obonuco Municipio de Pasto. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. pp 40 - 41.
- CCBAT (Centro de Conservación de la Biodiversidad Agrícola de Tenerife). 40 p.

- Cadima, X.; Leigue, L.; Zeballos, J. 2009. “Recursos Fitogenéticos, Riqueza Estratégica para el Desarrollo del País” – Modulo I. Cochabamba. Bolivia. pp 7-8.
- Durán, I, D C. 1989. Determinación de calidad culinaria y organoléptica de 50 variedades de papa nativa originaria de Chiloé. Tesis Lic. Universidad Austral de Chile, Valdivia CL. 144 p.
- Chávez, Alfaro, R. s. a. Sobre el origen, evolución y diversidad genética de la papa cultivada y la silvestre (en línea). Ciencia y desarrollo. 111-120. Disponible en:
<http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01011002606.pdf>
- CIP (Centro Internacional de la Papa). 2006. Procedimientos para pruebas de evaluaciones estándar de clones avanzados de papa. Guía para Cooperadores Internacionales. Eds. M. Bonierbale, S de Haan, A Forbes, C. Bastos. Trads. T. Ames, Mc Lauchlanz. Lima PE. S. e. 151 p.
- Cortez, R. y Hurtado, G. 2002. Cultivode la papa. (CENTA) Centro Nacional de TecnologíaAgropecuaria y Forestal, (en línea) Guía técnica: cultivo de la papa.1- 36 p. Disponible en:
<http://docplayer.es/5817796-Guia-tecnica-cultivo-de-la-papa.html>
- Coraspe, León HM. 2008. La calidad del tubérculo de papa. (en línea). (60): 1 - 3. FONAIAP. Estación experimental Trujillo. Disponible en:
http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd60/p_apa.html.
- Deberech, M. Maene, T. 1981. Plant tissue culture, and alternative for production of usefult metabolites. Agricultural services bulleting. p.108- 187.
- Egúsquiza, B, R. 2000. La papa producción, transformación y comercialización. Trad.W Hurtado de Mendoza. PRISMA- PROYECTO PRODECCE, PROYECTO PAPA ANDINA (CIP-COSUDE). Bolivia - Ecuador - Perú. 192 P.
- Espinoza, R. 2013. Biotecnología Agrícola: Introducción a la Biotecnología Vegetal. Esp. 1° ed. BO. Universitaria. 68p.
- FUNDACIÓN PROINPA, 2002. Una herencia de Bolivia para el mundo. PROINPA.Cochabamba-Bolivia. pp. 4.

- FUNDACION PROINPA. 2004. Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos. La Paz, Bolivia. pp. 4-13.
- FUNDACION PROINPA, 2005. Caracterización y evaluación complementaria de la colección de germoplasma de cañahua, Gestión 2004-2005. Manejo, Conservación y uso sostenible de los Recursos Genéticos de Granos Altoandinos, en el marco del SINARGEAA. Fundación PROINPA. La Paz-Bolivia. pp. 33-41.
- FUNDACION PROINPA, 2007. Caracterización de la diversidad de cultivos en tres microcentros de la zona del Lago Titicaca, Gestión 2006-2007. Fundación PROINPA. La Paz-Bolivia. pp. 127-137.
- García, W.; Cadima, X. 2003. Manejo sostenible de la agrobiodiversidad de tubérculos andinos: Síntesis de investigaciones y experiencias en Bolivia. Ed. PROINPA. Cochabamba, Bolivia. p. 4 – 7, 52 – 53, 55.
- George, E. y Sherrington, P. 1984. Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories. Eversley, Basingstoke, England Exegetics. 709p.
- Gonzales, C. 2002. Agro ecosistemas, conceptos básicos, Turrialba, CR, CATIE
- Gonzáles, T. 2003 Ajuste de medios para la micropropagación de palmito (*bactris gasipaes* h.b.k.) a partir de meristemos apicales Disponible en: www.upao.edu.pe/new_pregrado/mantenimientosilabo/silabus/20/10/2016
- Hawkes, J. G., 2012. The potato evolution biodiversity and genetic resources. Belhaven Press. London UK. 259 p.
- Hatmant, H. y Kester, D. 1997 Propagación de plantas 5ª Reimpresión. México. Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. 760p.
- Hewstone, G. Reyes, S. 2011. Effect of gelling agent and activated charcoal on the growth and development of *Cordyline terminalis* cultured in vitro. Proceedings of the First Conference of Ornamental Horticulture. Cairo, Egypt. October 22-24, p.55-67.
- Hernández, R.; Fontella, J.; et al. 1995. Electroterapia: nueva técnica para el saneamiento a virus en *Allium sativum* (pat.37/95 Cuba).

- Huamán, Z. 2008. Descriptores morfológicos de la papa (*Solanum tuberosum* L.).
- Hu, CV. y JP, Wang 1983. Meristem, shoot tip and bud culture. En: Handbook of plant Cell. p 256-290.
- Holle, O. M. 2004. Recursos Genéticos Vegetales. La Molina, Lima, Perú. pp. 187-189.
- Hurtado, D. y Merino, M. 1994. Cultivo de tejidos Vegetales. Editorial Trillas México D. F.S.A. 226p.
- INE, 2012. (Instituto Nacional de Estadística), Mapas de Municipios, Bolivia.
- Ibrahim, A. 1994. Effect of gelling agent and activated charcoal on the growth and development of *Cordyline terminalis* cultured in vitro. Proceedings of the First Conference of Ornamental Horticulture. Cairo, Egypt. October 22-24, p.55-67.
- INFOAGRO. 2003. Cultivo de la Papa. Disponible en <http://www.infoagro.com>.
- Jaramillo, S. y Baena, M. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación ex-situ de Recursos Fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali-Colombia. pp 37.
- Jara C, F. 2014, Definición de la papa. (en línea). Disponible en: http://chavarria-agro.blogspot.com/2014/07/cultivo-de-papa_2769.html.
- Kartha, K.1981. Meristem culture and cryopreservation: Methods and applications. En: Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture. T. New York: Academic Press. P 181-211.
- Kitto, S.L. 1997. Commercial micropropagation. HortScience. Vol 32 (6).
- LA PATRIA. 2013. Editorial LA PATRIA Ltda. Oruro, Bolivia publicación día lunes 21 de octubre 2013.
- León-Velarde C, Quiroz, R, 1994, Análisis de Sistemas Agropecuarios, CIRNMA, Puno, Perú, 238p.
- Litz, R.E. y Jarret, R.L. 1991. Regeneración de plantas en cultivos de tejidos: embriogénesis somática y organogénesis. En cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. p. 143-172.
- López, M.E.; De La Fuente, L.; Vergara, C.; Cárdenas, C. s.a. Evaluación sensorial

de la calidad culinaria de tres variedades y cuatro clones de papa (*Solanum tuberosum* L). Centro de Análisis de Alimentos (CEAL), Universidad de Los Lagos. Chile. (en línea).20p. Disponible en:

<http://www.papachile.cl/archivos-y-proyectos-universidad-de-loslagos/evaluacion-sensorial-de-la-calidad-culinaria-de-3-variedades-y-4- clones-de-papa-proyecto-3-consorcio-papa-chile/>

- Martínez Reynoso, FA. 2009. Caracterización morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (*Solanum tuberosum* L) en la provincia de Chimborazo. Tesis Lic. Riobamba EC.Escuela superior política de Chimborazo.159 p.
- Mangara, J. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo invitro, los meristemas y la organogénesis. Madrid, España. Mundi prensa.232p.
- Martínez Reynoso, FA. 2009. Caracterización morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (*Solanum tuberosum* L) en la provincia de Chimborazo. Tesis Lic. Riobamba EC.Escuela superior política de Chimborazo.159 p.
- Medina, M. 2005. Organismos vegetales. Fundamentos de la organografía vegetal.(en línea)
<<http://www.unizar.es/departamentos/bioquimicabiologia/docencia/FMBvisual/Micropropa/Micvegetal.htm>>
- Murillo. R. 2014. Introducción a la Biotecnología Agrícola. Facultad de Agronomía-UMSA. La paz, Bolivia. p. 40-54.
- Murashige y Skoog, 1962 Arevised médium for tapid growth and bioassays with tobacco tissue. Plant cell Physiol. pp.803-814.
- Muñoz, Tapara, C. y Estaña, Gonzales, W. 2012. Diversidad y variabilidad genética de papa nativa en Puno. Ed. Dirección Regional Agraria Puno. Puno PE. DISKCOPY S.A.C. 89 p.
- Monteros, C, Yumisaca, F, Andrade-Piedra, J. y Reinoso, I. 2011.Papas Nativas de la Sierra Centro y Norte del Ecuador: Catálogo etnobotánico, morfológico, agronómico y de calidad.Quito EC.Instituto Nacional Autónomo de

Investigaciones Agropecuarias(INIAP), Centro Internacional de la Papa (CIP).144 p.(Miscelánea N° 179).

- Moya, T. Mederos, B. 2001. Cultivo de meristemas para la eliminación del virus S de la papa en plantas cultivadas in vitro. Tesis.Cuba, CU. Instituto de Biotecnología de la Plantas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. 119 p.
- Morel,G. y Martin, C. 1955. Guerison de ponme de terre de maladie a virus. C.R. Acad. Sci. Paris. 1315-1324.
- Montaldo A. 2010. Cultivo y mejoramiento de la papa. Ed. J Escobo B. San José CR.CIDIA - IICA. 681 p. (serie de libros y materiales educativas/IICA n° 54)
- Mondino, C. y Traverso, I. s. a. Panorama varietal de la papa. Sus usos en la cocina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Centro Regional Santa Fe. (en línea). sp.Disponible en:
inta.gob.ar/sites/.../script-tmp-inta-variedades-papa_usos-en-la-cocina.pdf.
- Ochoa T. R., 2007. Diseños experimentales. La Paz, Bolivia. 298 p.
- Pacheco, V. 2014. Caracterización preliminar del germoplasma de papa amarga en la estación experimental Patacamaya. Tesis Lic.Ingeniería agronómica. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, BO,143 p.
- Pérez, J. 1998. Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. 179-191p.
- Portillo, G. 1999. Multiplicación vegetativa y cultivo in vitro. Los meristemas y la or Preil, W. 1991. Application of bioectors in plants propagation. En: Micropropagagation. Debergh. Academy Publisherts, p. 425-445.ganogénesis. Madrid, España. Mundi Prensa. 232p.
- Reuveni, O, et al. 1985. Genetic variability in banant plants mutiplied via in vitro culture. IBPGR. Final. Report, 36p.
- Redenbaugh, K. 1986. Analog of botanic sedes. U.S. Patent. 4: 562-563.
- Ripa, M. y G, Merida. 2002. Diseño e implementación de la estrategia nacional de conservación y uso sostenible de la biodiversidad. Ed. PRESENCIA. La Paz, Bolivia. p. 8, 10, 14.

- Rojas, B, 2003. Caracterización de clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* subespecie andígenum) por su potencial para la producción de almidones nativos. Trabajo de grado. Bogota D.C. CO. Universidad de La Salle. 125 p.
- Salazar, M; Zambrano, J Y; Valecillos, H. 2008. Evaluación del rendimiento y Características de calidad de trece clones avanzados de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agricultura Andina*. (14):101-117.
- Sandoval, C. 2001. Introducción a la Biotecnología Vegetal. Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, Inc. (CEDAF). Santo Domingo, República Dominicana. p. 23-25.
- Seemann, J.K. 1993. Callus induction and culture of rosa. *Sci. Hortic* 17:361-370.
- Sotto, C. 2001. Calidad de consumo en variedades de papa. 2003, INIA - Mercado Modelo. (en línea).sp. Consultado 12 dic .2017.
Disponible:
En
http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/pol/2003/calidad_papa.pdf
- Tapia, ME. Y Fries, AM. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. LimaPE. FAO y ANPE. Ed. Cadmo Rosell. 209p.
- Takayama, S. y Akita, M. 1996. Biorreactor advances for the large-scale production of cultured cells. Organization in cultures grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* 45:705-708.
- Valdunciel, Perez. J. sa. INIA. Métodos de valoración para las patatas (en línea). Calidad patatas. 1-12. Consultado 04 mar 2018.
Disponible en:
<http://wwwsp.inia.es/Investigacion/OtrasUni/DTEVPF/Unidades/CentrosEnsayo/EstacionEnsayos/Documents/M%C3%A9todospatata.pdf>
- Vasil, I.K. 1994. Automation in plant propagation. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*, 39(2): 105-108.

- Villalobos,W.M. y Garcia, r. 1982. Micropropagacion; conceptos metodología y resultados en cultivos de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Ed. William Roca. P. 127-141.
- Weldt, E. 2008. Establecimiento, multiplicación y enraizamiento invitro de rosa canina .Chile. Tesis de Licenciatura. Facultad de agronomía.2p.

ANEXOS

N__DE FAMILIA	SI	NO	Cómo se las denominan?				
Existe una diversidad de papa nativa?							
Como se consume las papas nativas?	chuño	tunta	wathia	papa blanca	sopa	qhati	otras
Tiene alguna dificultad para el consumo en estado fresco?	SI	NO	porque?				
Bajo qué características y metodos realiza la selección?							
Cuándo considera que el tubérculo es de buena calidad?							
Como almacena los tubérculos?							
Usted vende o solamente es para consumo?							
Bajo que saber ancestral o criterio natural usted se basa para la cosecha de sus cultivos?							
existe algun bioindicador?							
que muestra o cual es la caractersitica de este bioindicador?							

Anexo N° 1. Tipo de Encuesta utilizada en la investigación



Anexo N° 2. Reunión con las autoridades originarias



Anexo N° 3. Entrevista a los comunarios de Huatapampa



Anexo N° 4. Entrevista con las autoridades de Tito Yupanqui



Anexo N°5. Selección de semillas de papa para la siembra



Anexo N°6. Remoción de suelo antes de la siembra



Anexo N°7. Tipo de Abono natural descomposición de totora y algas del lago



Anexo N°8. Cultivo de Papa



Anexo N° 9. Bioindicador del cultivo de Papa



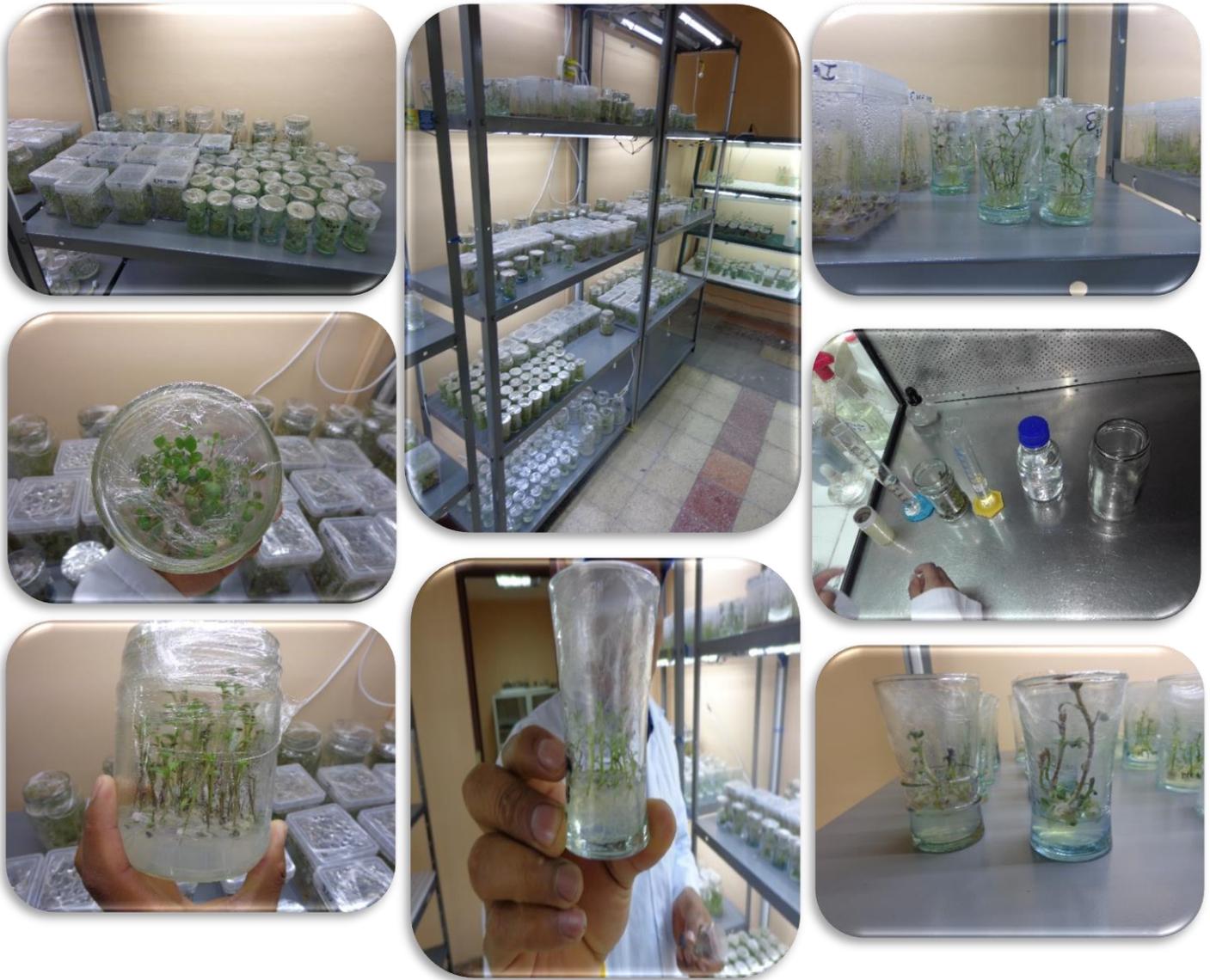
Anexo N° 10. Confraternización y exposición de los platos típicos con papas nativas y muestras de ecotipos de papas de los comunarios del lugar



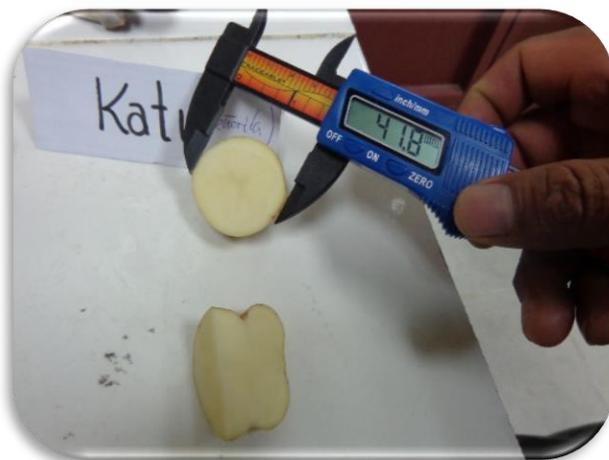
Anexo N°11. Ecotipos de Papas Nativas



Anexo N°12. Platos típicos con papas nativas



Anexo N° 13. Plantas in vitro de variedades de papas nativas obtenidas en laboratorio de biotecnología





Anexo N° 14. Determinación de descriptores de tubérculos de papas

