

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



**TESIS DE GRADO**

**EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE TRES GENOTIPOS DE VITROPLANTAS  
DE PAPA NATIVA (*Solanum tuberosum* spp. *andigenum* L.) BAJO TRES  
DIFERENTES SUSTRATOS HIDROPÓNICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE  
SEMILLA PRE-BÁSICA EN INVERNADERO**

**EBED QUISPE CALLE**

**La Paz – Bolivia**

**2009**

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

**EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE TRES GENOTIPOS DE VITROPLANTAS DE PAPA  
NATIVA (*Solanum tuberosum* spp. *andigenum* L.) BAJO TRES DIFERENTES  
SUSTRATOS HIDROPÓNICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA PRE-BÁSICA  
EN INVERNADERO**

*Tesis de Grado presentado como requisito parcial  
para optar el Título de Ingeniero Agrónomo*

**EBED QUISPE CALLE**

**TUTOR:**

Ph.D. Ing. VICTOR HUGO MENDOZA CONDORI

\_\_\_\_\_

**ASESORES:**

Ing. Agr. EDGAR GOMEZ VILLALBA

\_\_\_\_\_

Ph.D. Ing. ALEJANDRO BONIFACIO FLORES

\_\_\_\_\_

**COMITÉ REVISOR**

M.Sc. Ing. RUBEN TRIGO RIVEROS

\_\_\_\_\_

M.Sc. Ing. WILFREDO PEÑAFIEL RODRIGUEZ

\_\_\_\_\_

M.Sc. Ing. FELIX MAMANI

\_\_\_\_\_

**APROBADA**

Presidente Tribunal Examinador

\_\_\_\_\_

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>INDICE DE CUADROS.....</b>	<b>iv</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>v</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>viii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Importancia de la Producción de Semilla.....	4
2.2 Normas de Certificación de Semilla de Papa.....	5
2.3 Producción de Semilla Pre-básica de Papa.....	5
2.4 Aclimatación de las Plantas Regeneradas <i>in vitro</i> en Invernadero.....	6
2.5 Cultivo de Tejidos Vegetales <i>in vitro</i> .....	8
2.5.1 Factores a Considerar para el Establecimiento de Cultivos de Tejidos Vegetales <i>In vitro</i> .....	9
2.5.2 Micropropagación.....	11
2.6 Hidroponía.....	13
2.6.1 Ventajas del Cultivo Hidropónico.....	14
2.6.2 Nutrición Hidropónica.....	15
2.7 Sustrato o Suelos Artificiales.....	16
2.7.1 Características Físicas de los Sustratos.....	17
2.7.2 Características Químicas Favorables de los Sustratos.....	17
2.7.3 Intercambio Adecuado de Aire y Agua.....	17
2.7.4 Elección del Material para Preparar los Sustratos.....	18
2.7.5 Sustrato Inorgánico – Arena.....	19
2.7.6 Sustratos Orgánicos.....	19
2.7.6.1 Cascarilla de Arroz.....	19
2.7.6.2 Aserrín.....	20
2.7.6.3 Paja Brava.....	22
2.8 Genotipo.....	22
2.9 Papas Nativas.....	22
2.9.1 Importancia de las Papas Nativas.....	23

<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1 Localización.....	24
3.1.1 Ubicación Geográfica.....	24
3.1.2 Descripción Climatológica.....	24
3.2 Materiales.....	25
3.2.1 Material Vegetal.....	25
3.2.2 Material Instrumental y Equipo de Laboratorio.....	27
3.2.3 Reactivos y Soluciones.....	28
3.2.4 Material de Invernadero.....	28
3.3 Metodología.....	28
3.3.1 Fase de Laboratorio.....	29
3.3.1.1 Estructura.....	29
3.3.1.2 Desinfección y Esterilización de Ambientes, Equipos y Materiales de Trabajo.....	30
3.3.1.3 Preparación de Medio de Cultivo.....	30
3.3.1.4 Introducción de Brotes y Micropropagación <i>in vitro</i> .....	31
3.3.2 Fase de Invernadero.....	33
3.3.2.1 Descripción del Invernadero.....	33
3.3.2.2 Preparación de las camas de producción.....	33
3.3.2.3 Preparación y Desinfección de sustratos.....	34
3.3.2.4 Aclimatación de Vitroplantas.....	35
3.3.2.5 Trasplante de Plantines a Camas de Producción.....	36
3.3.2.6 Preparación de la Solución Hidropónica y Dosis de Riego.....	37
3.3.2.7 Labores Culturales.....	38
3.4 Diseño Experimental.....	39
3.4.1 Factores de estudio.....	39
3.4.2 Tratamientos.....	40
3.4.3 Modelo Aditivo Lineal.....	40
3.4.4 Análisis Estadístico.....	41
3.5 Dimensiones de las Unidades Experimentales y Camas de Producción.....	42
3.6 Variables de Respuesta.....	43
3.6.1 Fase de Laboratorio.....	43

3.6.2 Fase de Invernadero.....	43
3.6.3 Análisis Económico.....	46
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>47</b>
4.1 Fase de Laboratorio.....	47
4.1.1 Altura de Vitroplanta.....	47
4.1.2 Número de Nudos.....	50
4.1.3 Número de Brotes.....	52
4.1.4 Número de Hojas.....	52
4.1.5 Grado de Enraizamiento.....	53
4.2 Fase de Invernadero.....	54
4.2.1 Temperatura.....	54
4.2.2 Acidez del Sustrato.....	56
4.2.3 Prendimiento de Vitroplantas de Papas nativas a Sustratos Artificiales.....	57
4.2.4 Altura de Planta.....	58
4.2.5 Diámetro del Tallo por Planta.....	61
4.2.6 Velocidad de Crecimiento.....	62
4.2.7 Días a la Floración.....	64
4.2.8 Días a la Cosecha.....	64
4.2.9 Número de Tubérculos por Planta.....	64
4.2.10 Peso de Tubérculos por Planta.....	67
4.2.11 Rendimiento Total.....	68
4.2.12 Clasificación de Tubérculos por Categoría.....	70
4.2.13 Número de Yemas (ojos) por Tubérculo y Categoría.....	72
4.2.14 Análisis Económico.....	74
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>78</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>79</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Factores de estudio para la producción de semilla pre-básica de papa nativa bajo el sistema hidropónico.....	39
<b>Cuadro 2.</b> Descripción de los tratamientos combinados.....	40
<b>Cuadro 3.</b> Clasificación de Tubérculos por Categoría.....	45
<b>Cuadro 4.</b> Altura de vitroplantas (cm) de las papas nativas: Pali Blanca, Polonia y Sacampaya.....	47
<b>Cuadro 5.</b> Análisis de varianza del Prendimiento de Vitroplantas de Papas Nativas a Sustratos Artificiales.....	57
<b>Cuadro 6.</b> Análisis de varianza para la altura de las plantas y diámetro de tallo en la fase de madurez fisiológica de los genotipos de papa nativa.....	58
<b>Cuadro 7.</b> Análisis de varianza para la velocidad de crecimiento.....	63
<b>Cuadro 8.</b> Análisis de varianza de las variables: Número de tubérculos por planta, peso de los tubérculos por planta y rendimiento total (kg/m <sup>2</sup> ).....	65
<b>Cuadro 9.</b> Beneficios netos, beneficios brutos y costos variables de los sustratos en estudio.....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Características morfológicas observadas en invernadero: Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Pali blanca.....	26
<b>Figura 2.</b> Características morfológicas observadas en invernadero: Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Sacampaya.....	26
<b>Figura 3.</b> Características morfológicas observadas en invernadero: Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Polonia.....	27
<b>Figura 4.</b> Forma de introducción de un brote de papa nativa en un tubo de ensayo con 2,5 ml de Medio de Cultivo.....	31
<b>Figura 5.</b> Multiplicación a partir de una vitroplanta cada 3 a 4 semanas (21-28 Días).....	32
<b>Figura 6.</b> a) y b) Desinfección y preparación de camas de producción, c) lavado de arena, d) sustratos hidropónicos establecidos en cada unidad experimental y e) hoyos (pequeños) para el trasplante.....	34
<b>Figura 7.</b> a) Vitroplantas de papa en vasitos de vidrio, b) Operador realizando el lavado del medio de cultivo y aclimatación, c) Plántulas prendidas con hojitas pequeñas, d) Trasplante de plantitas prendidas en camas de producción.....	36
<b>Figura 8.</b> Diagrama de cajas de la altura de vitroplantas de genotipos de papa nativa.....	49
<b>Figura 9.</b> Diagrama de cajas para el número de nudos de vitroplantas de genotipos de papa nativa.....	51

<b>Figura 10.</b> Diagrama de cajas para el Número de Brotes de vitroplantas de genotipos de papa nativa.....	52
<b>Figura 11.</b> Diagrama de cajas del número de hojas de los genotipos de papa nativa.....	53
<b>Figura 12.</b> Valores del Grado de enraizamiento de los tres genotipos de papa nativa: Sacampaya, Polonia y Pali blanca.....	54
<b>Figura 13.</b> Comportamiento de la temperatura en el invernadero durante el ciclo vegetativo de la papa gestión 2008.....	55
<b>Figura 14.</b> Acidez de los sustratos hidropónicos.....	56
<b>Figura 15.</b> Efecto de los sustratos en la altura de planta de los genotipos de papa durante la fase madurez fisiológica. Comparación de medias Duncan (5%).....	59
<b>Figura 16.</b> Altura de planta durante las fases fenológicas del cultivo de papa nativa.....	60
<b>Figura 17.</b> Efecto de los sustratos en el diámetro del tallo de los genotipos de papa, durante la madurez fisiológica. Comparación de medias Duncan (5%).....	61
<b>Figura 18.</b> Diámetro del tallo durante las fases fenológicas del cultivo de papa.....	62
<b>Figura 19.</b> Efecto de los sustratos en la velocidad de crecimiento por día de los genotipos de papa durante la fase de madurez fisiológica. Duncan (5%).....	63
<b>Figura 20.</b> Efecto de los sustratos en el número de tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa a los 160 días después de la aclimatación, Duncan (5%).....	66
<b>Figura 21.</b> Efecto de los sustratos en el peso de tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa a los 160 días después de la aclimatación, Duncan (5%).....	67



**Figura 22.** Efecto de los sustratos en el rendimiento total de los genotipos de papa nativa. Comparación de medias Duncan (5%).....69

**Figura 23.** Peso de los tubérculos por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia..... 71

**Figura 24.** Peso total de tubérculos por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia.....72

**Figura 25.** Número de yemas (ojos) por tubérculo por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia.....73

## ANEXOS

<b>Cuadro 1.</b> Solución Stock de Murashige y Skoog (1962).....	89
<b>Cuadro 2.</b> Sales para la Solución Hidropónica.....	90
<b>Cuadro 3.</b> Equipos e Instrumentos utilizados en Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales-División Agricultura-CIN-VIACHA.....	91
<b>Cuadro 4.</b> Soluciones Stock, Compuestos Orgánicos y Agente geleficante para preparar 100 ml de Medio de Cultivo.....	94
<b>Cuadro 5.</b> Costos de producción de semilla pre-básica de papa nativa.....	95
<b>Cuadro 6.</b> Inicio de cada fase fenológica de las tres papas nativas a partir de vitroplantas.....	96
<b>Figura 7.</b> Fase fenológica del cultivo de papa.....	97
<b>Figura 8.</b> Edad de brotación múltiple y senescencia.....	97

# *DEDICATORIA*

## *"A Dios"*

*Este Trabajo esta dedicado con mucho cariño a dos personas reales que han enriquecido mis mundos experienciales personales de muchas maneras.*

*A mi querido padre: Manuel Quispe Patty, que me enseñó a pensar libremente y actuar creativamente, también la importancia de las relaciones sociales.*

*A mi querida madre: Zenobia Calle de Quispe, que me enseñó a apreciar el mundo de la belleza y los sentimientos en la vida.*

*El resultado de estas influencias, por la comprensión y sacrificio hecho para que logre culminar el presente trabajo.*

*A mi querida familia:*

*A mi hijo Michael Gherald, fruto, reflejo y fuente de una excelente relación.*

*A mis hermanos(as): Rufino, Marco, Isabel, Cristina, Felipa, Ruth y Jacoba.*

*A mis sobrinos(as): Juan, Miguel, Alejandra, Rocio.*

*Al lado de quienes, cada alegría, cada tristeza, cada éxito, cada fracaso,  
cada enseñanza, cada ejemplo, cada consejo, cada instante...  
me prepararon para ser lo que hoy.*

**Solo la papa salvará al mundo.**

**Nuestras papas nativas que sigan cumpliendo años y alimentándonos por siempre...**

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS por haberme dado la sabiduría, inteligencia, voluntad, por haberme amado siempre, por brindarme y conservarme la vida para culminar las metas que propuse.

Todo mi amor y profundo agradecimiento a quienes me dieron la vida, la forjaron e hicieron realidad un sueño el de ver a su primer hijo profesional y por todo el apoyo brindado siempre. A mis amados padres Manuel y Zenobia.

Al Centro de Investigaciones Nucleares - Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear, dependiente del Viceministerio de Planificación y Desarrollo, por el apoyo brindado durante el desarrollo del trabajo de campo.

A mi Tutor: Dr. Víctor Hugo Mendoza, por la confianza y paciencia depositada, por todas las correcciones durante la fase de elaboración y conclusión de este documento, por su experiencia, por su apoyo incondicional, y sobre todo por su amistad.

A mis Asesores: Ing. Edgar Gómez, por la solidaridad, paciencia y apoyo en la fase de Laboratorio e Invernadero, por las observaciones y correcciones constantes; Dr. Alejandro Bonifacio por las correcciones durante la fase de elaboración del documento.

Al Tribunal Revisor conformado por: el Ing. M.Sc. Rubén Trigo, Ing. M.Sc. Wilfredo Peñafiel, Ing. M.Sc. Felix Mamani, por las correcciones y observaciones, por su disponibilidad de tiempo y dedicación en los valiosos aportes para la presentación final del documento.

A mi familia por todo su amor, esperanza, constante aliento, ayuda espiritual y toda su confianza en mí. Mil gracias...

Y a todos quienes de alguna manera aportaron en la realización del presente trabajo y en mi formación profesional.

MIL GRACIAS...

## RESUMEN

La papa es originaria de la zona andina, importante cultivo y componente de la soberanía alimentaria, más de 1500 variedades nativas en Bolivia; toda esta variabilidad ahora es un legado a las generaciones actuales y futuras de Bolivia y el Mundo.

La papa se puede propagar por medio de cultivo de tejidos *in vitro*. Pues éste método de propagación ofrece la posibilidad de obtener plantas homogéneas, en mayor cantidad, libres de patógenos y en cualquier época del año.

De ahí, que en esta investigación se consideró de interés evaluar el comportamiento agronómico de tres genotipos de vitroplantas de papa nativa: Pali blanca, Sacampaya y Polonia, las cuales fueron micropropagadas en un medio Murashige y Skoog (1962), luego aclimatadas en tres diferentes mezclas de sustratos hidropónicos: 50% arena + 50% cascarilla de arroz, 50% arena + 50% aserrín y 50% arena + 50% paja brava, obteniéndose nueve tratamientos de la combinación de los tres genotipos y los tres sustratos planteados, para la producción de semilla pre-básica en invernadero.

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales y en un Invernadero de las instalaciones del Centro de Investigaciones Nucleares (CIN) dependiente del Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear (IBTEN), ubicado en la localidad de Viacha, departamento de La Paz, Bolivia.

El estudio se dividió en dos fases experimentales, en la primera se evaluaron el comportamiento morfológico *in vitro* de tres genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia. En la segunda fase se determinó el comportamiento agronómico de vitroplantas desde la aclimatación hasta la cosecha en invernadero bajo el sistema hidropónico y evaluar tres sustratos hidropónicos para la producción de semilla pre-básica de papa de tres genotipos en estudio.

En cuanto a la primera fase de laboratorio del cultivo *in vitro* de las vitroplantas de los genotipos, el mejor comportamiento morfológico en cuanto a la altura, número de nudos,

número de hojas, presentó el genotipo Sacampaya, mientras en el número de brotes y grado de enraizamiento Pali blanca.

En la segunda fase en invernadero, la papa Pali blanca tuvo mejor respuesta en cuanto al comportamiento morfológico respecto a las variables altura de planta, velocidad de crecimiento y en diámetro de tallo el genotipo Polonia.

En cuanto al efecto del sustrato para la producción de semilla pre-básica, el sustrato preparado con arena y cascarilla fue el que obtuvo mejores resultados en la variable altura, velocidad de crecimiento. El sustrato preparado con arena y paja brava fue de mejor respuesta en el diámetro de tallo.

El mejor rendimiento se obtuvo en el sustrato arena y paja brava de 2,246 kg/m<sup>2</sup> y mayor número de tubérculos por planta (13,6 tubérculos/planta). Se concluye los tres sustratos cascarilla de arroz, aserrín y paja brava, son rentables para la producción de semilla pre-básica de papa nativa.

# 1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* sp. L.) es un tubérculo nativa de la Cordillera Andina de Sur América, cuyo origen se ubica entre las regiones de Perú y Bolivia (Linares y Gutiérrez, 2002; citado por Scielo, 2007). La producción anual en el país es de 642.382 toneladas con un rendimiento promedio de 5,119 t/ha, en América Latina su rendimiento alcanza 23 t/ha (Prefectura, 2005; citado por Yucra, 2006).

La producción de papa es importante para la población boliviana debido a que genera una actividad económica importante por las propiedades alimenticias que tiene tanto en proteínas, carbohidratos, minerales y otros. Importante cultivo alimenticio, componente de la soberanía alimentaría y gran biodiversidad de papas mayor a 4500 variedades nativas, mas de 1500 en Bolivia (CIP, 2008).

El nivel de producción en el país está entre los más bajos debido a diferentes problemas como; enfermedades, plagas, limitada tecnología de producción, empleo de semilla degenerada (acumulación sistemática de virus, viroides, fitoplasmas, etc.) y otros como riesgos ambientales, uno de cada 4 años hay pérdidas de cosechas por principales amenazas: granizo, heladas, inundación y sequía (Morales, 2008).

Actualmente el problema de la semilla se puede resolver por diferentes técnicas, una de las mejores, es por técnicas de cultivo de tejidos *in vitro* para lo cual se realiza en un sistema de producción “*in vitro* – invernadero - campo” generando semilla certificada. Este sistema es efectivo en cuanto a la calidad de semilla producida.

La propagación *in vitro* de la papa ha sido utilizada ampliamente para la multiplicación rápida de clones libres de enfermedades y la obtención de tubérculos sanos para ser usados como semillas (Roca *et al.*, 1978; Goodwin *et al.*, 1980; Hussey y Stacey, 1981; citada por REDEPAPA, 2007). El sistema consiste en subcultivar secciones nodales en el laboratorio de cultivo *in vitro*, con el objetivo de multiplicar masivamente vitroplantas libres

de patógenos, que sirven como plantas madres para la producción de semilla pre-básica. Estos constituyen el material inicial, el cual es multiplicado sucesivamente en campo por los agricultores, en el proceso de producción de semilla certificada (Salas, 1995; citado por REDEPAPA, 2007).

El presente trabajo está orientado a la producción de semilla pre-básica de los genotipos de papa nativa: Pali Blanca, Sacampaya y Polonia bajo un sistema hidropónico utilizando vitroplantas obtenidas por micropropagación *in vitro* de papas procedentes de la colección de germoplasma del Centro de Investigaciones Nucleares dependiente del Instituto Boliviano y Tecnología Nuclear (CIN-IBTEN).

El uso de buena semilla de estos genotipos de papa incrementará a mediano plazo la producción y productividad y por ende mejorará el nivel de vida de los productores y contribuirá a la soberanía alimentaria resguardando la biodiversidad de papas.

Otra de las causas es que no existen estudios en la producción de semilla pre-básica de papa en sustratos hidropónicos como el aserrín, paja brava, cascarilla de arroz, que son materiales en desuso o de bajo costo, por lo que se evaluó la mezcla de cada una con arena, como una alternativa para reducir costos en la producción de semilla sana de alta calidad genética y fisiológica.



Para tal efecto, la presente investigación planteó los siguientes objetivos:

**a) Objetivo General:**

- Evaluar el comportamiento agronómico de tres genotipos de vitroplantas de papa nativa bajo tres diferentes sustratos hidropónicos para la producción de semilla pre-básica en invernadero.

**b) Objetivos Específicos:**

- Evaluar el comportamiento morfológico *in vitro* de tres genotipos de papa nativa: Pali blanca, Sacampaya y Polonia.
- Determinar el comportamiento agronómico de tres genotipos de vitroplantas de papa nativa, Pali blanca, Sacampaya y Polonia durante la aclimatación hasta la cosecha bajo el sistema hidropónico en invernadero.
- Evaluar tres sustratos hidropónicos para la producción de semilla pre-básica de tres genotipos de vitroplantas de papa nativa.
- Evaluar los costos de producción de semilla pre-básica de tres genotipos de vitroplantas de papa en condiciones de invernadero.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importancia de la Producción de Semilla

Roca y Mroginski (1991), mencionan que la papa es el primer tubérculo que ha sido objeto de amplios estudios en las zonas de cultivo, llegando a ser un producto seleccionado, mejorado y acondicionado a muchos ambientes; obteniéndose material de siembra de alta calidad para ser distribuido.

Según Adriel *et al.* (1989), señalan que la producción de tubérculo semilla debe contener muchos atributos específicos que son de interés para el agricultor, tales como constitución genética de la variedad, germinación, vigor, ausencia de enfermedades, malezas, materia inerte y tener pureza varietal.

Así también Trigo (1994) y Salas (1995); mencionan que la producción de semilla de papa de calidad (genética, fisiológica y sanitaria), garantizará el verdadero potencial de las variedades comerciales y los clones avanzados del programa de mejoramiento genético.

Según el Programa de Investigación de la Papa (1997); citado por Lara (1999), reporta que la producción, distribución y el abastecimiento de tubérculos-semilla de papa de alta calidad tiene importancia decisiva. Esto, debido al alto costo, perecibilidad, transmisión de plagas y patógenos, pérdida de calidad y sanidad en cada ciclo de cultivo y gran variabilidad genética; por lo que a la vez se exigen soluciones en base al asesoramiento técnico de instituciones especialistas en estas áreas.

Montalvo (1984), indica que las altitudes de 3.000 a 3.500 m.s.n.m. son los más apropiados para la producción de semilla de papa. En estas regiones de temperaturas bajas, la transmisión de enfermedades virosas es escasa debido a la reducida población de los insectos vectores de virus. De acuerdo a esta observación las medidas de control de enfermedades y plagas son relativamente económicas y más eficientes.

## **2.2 Normas de Certificación de Semilla de Papa**

En Bolivia, la certificación de semilla considera las siguientes categorías: Pre-básica, Básica, Registrada, Certificada y Fiscalizada (Lara, 1999). De éstas las dos primeras están orientadas exclusivamente al proceso de mejoramiento y remultiplicación. Producidas en volúmenes bajos, debido sobre todo al procedimiento técnico en el proceso de producción (PNS, 2004).

Según Palacios (2002), en la Reunión del Comité Nacional Administrativo del Programa Nacional de Semillas (CNA-PNS) realizado en La Paz en agosto de 1999 se aprobaron normas para la producción de semilla de papa donde se deben tomar en cuenta, de una manera general, los siguientes aspectos importantes: zonas de producción, identificación del campo semillero, sanidad de suelos y condiciones del semillero o semillerista.

Uno de los cultivos con más requerimientos tecnológicos para la producción de semilla es la papa, por que está expuesto al ataque de numerosos organismos patógenos como hongos, bacterias y virus (Salas, 1995). Por ello la producción de semilla pre-básica es realizada por instituciones especializadas con requerimientos de alta experiencia y tecnología en su organización (Kloos y Caero, 1992).

## **2.3 Producción de Semilla Pre-básica de Papa**

Según Salas (1995), denomina semilla genética o pre-básica a los primeros tubérculos obtenidos de las pequeñas plántulas *in vitro*.

Según Daniels (1983), indica que un sistema de producción de semilla pre-básica, es a partir de plántulas procedentes de material parental de origen comprobado y multiplicadas *in vitro*. También Salas (1995), menciona que el tubérculos-semilla categoría pre-básica, se obtiene a partir del clon seleccionado, utilizando técnicas de cultivo *in vitro* y micropropagación, las cuales aceleran el proceso de producción y aseguran materiales libres de patógenos, condición esencial para el éxito de cualquier programa de producción de semillas.

Peña (1999), indica que la calidad de semilla pre-básica, incluye tanto el grado de sanidad como su estado fisiológico, por consiguiente, es necesario tomar todas las medidas posibles de protección durante la cosecha, la clasificación y el almacenamiento, con el fin de mantener al máximo el potencial de rendimiento de la semilla.

García, Cevallos, Estrella (1993), para la producción de semilla pre-básica de papa, se establece que existen alternativas o métodos de producción: continua y estacional. Las áreas con climas rigurosos y marcados obligan a emplear un sistema de producción estacional es decir uno o dos cultivos al año.

## **2.4 Aclimatación de las Plantas Regeneradas *in vitro* en Invernadero**

El invernadero según Dubois (1980), se define como una estructura con cubierta transparente, en la que es posible mantener un ambiente más o menos controlado con relación a la temperatura, humedad y energía radiante, para proseguir un adelanto o retraso en las cosechas, proteger los cultivos y hacer un mejor uso del agua.

Según Mendoza (2008), el período de adaptación de las plántulas *in vitro* al nuevo hábitat es llamado fase ó etapa de aclimatación. La aclimatación de vitroplantas en invernadero significa de *in vitro* a *ex vitro*, de condiciones heterótrofas a autótrofas, de laboratorio a campo. Al respecto se debe tener los siguientes cuidados en la aclimatación:

- Destacar un alto nivel de higiene en el área de trasplante para reducir al mínimo los problemas infecciosos y de contaminación.
- Al extraer la plántula enraizada *in vitro* no dañar las raíces formadas, particularmente si se quiere eliminar el agar adherido mediante lavados; este daño puede provocar infecciones posterior al estar trasplantadas en el sustrato. Es muy recomendable inducir el enraizamiento fuera del frasco de cultivo, con las hormonas enraizadoras, aunque representa una economía en tiempo y costos.
- Un sustrato con material orgánica y una alta humedad relativa es una gran invitación para que los microbios invadan a las plántulas y al suelo.
- Durante la aclimatación la temperatura debe ser fresca (13 a 20 °C).

- Para prevenir infecciones fungosas puede mezclarse enraizador con fungicida. También puede aplicarse fertilizantes foliares muy diluidos (2 g/l) mediante el sistema de nebulización.

Según SEMTA (1991), en el manejo del invernadero la planta de papa necesita de luz, agua, aire y humedad para crecer normalmente, por ello es importante mantener un equilibrio entre estos elementos dentro del mismo. Son tres los elementos que deben tomarse en cuenta:

- La **ventilación**. Es vital, con ella se controla la temperatura y se cambia el aire del invernadero. La temperatura en el altiplano varía entre el día y al noche, estos cambios perjudican el crecimiento de las plantas. Se debe evitar los extremos, abriendo las ventanas por la mañana y cerrándolas por tarde, de acuerdo al tiempo y al clima de la época. En la época más caliente, generalmente los meses de noviembre, diciembre y enero, se deben abrir las ventanas nueve horas (9:00 a.m a 17:00). En invierno, junio, julio y agosto, las ventanas deben abrirse siete horas (9:30 a.m. a 16:30). La temperatura no debe sobrepasar los 25°C y tampoco debe estar por debajo de los 5°C. Las temperaturas extremas queman las plantas y no dejan que los procesos de crecimiento, floración y fructificación se cumplan.
- **Luz**. Ninguna planta puede desarrollarse con falta de luz. A campo abierto no hay este problema, pero en los cultivos protegidos, las paredes, las calaminas y los bastidores disminuyen la intensidad de la luz. Muchas veces se somete el error de sembrar o trasplantar a distancia muy corta entre planta y planta, cuando esto ocurre las plantas tiene que competir entre ellas por luz. También muchas veces se siembra cerca de la pared donde hay mucha sombra. Estos problemas se pueden evitar manteniendo la distancia correcta entre plantas y sembrando cerca de la paredes plantas resistentes a la sombra. El incremento de las temperaturas y la reducción de la luminosidad inciden directamente en los rendimientos que son inferiores en el 50% a los obtenidos en los invernaderos construidos sin cubierta plástica como techo.

- **Humedad.** A través del riego y la ventilación se puede controlar la humedad del aire. Cuando se riegan los cultivos y hace mucho calor, sube la humedad y aumenta el riesgo de enfermedades micóticas, por esto es importante la ventilación.

## 2.5 Cultivo de Tejidos Vegetales *in vitro*

Cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, significa cultivo *in vitro* de células, tejidos u órganos colocada sobre un medio nutritivo artificial en un recipiente generalmente de vidrio bajo condiciones estériles y ambientales controladas (Mendoza, 2008).

Al respecto Rodríguez (2000), menciona que el cultivo de tejidos vegetales es el proceso que consiste en el empleo de técnicas para el crecimiento y desarrollo de tejidos y células, para obtener plantas nuevas cultivadas en medio de cultivo sólido y aséptico, para ser utilizados en la conservación de recursos genéticos en forma clonal. Clon representa una generación de plantas derivadas asexualmente a partir de un solo individuo, por medio de cortes, multiplicación *in vitro*, etc. conteniendo una genética a los progenitores (Ascarrunz, 1996; citado por Yucra, 2006).

La propagación clonal *in vitro* permite obtener plantas homogéneas, en mayor cantidad y libres de patógenos (Murashige *et al.*, 1974; Zárraga y Granada, 1999); además en cultivo de papa permite generar vitroplantas nuevas en un corto tiempo (Gómez, 2008).

Mediante el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, es posible cultivar plantas completas, a partir de partes de las mismas o incluso de células aisladas en un medio de cultivo estéril. Manteniendo éstas en medios que contengan minerales, factores de crecimiento, una fuente de carbono y reguladores de crecimiento (Lindsey y Janes, 1992; citado por Quezada, 1999).

Villaroel (1997), menciona que el cultivo de tejidos actualmente se constituye en una alternativa de producción de material de alta calidad genético-sanitaria, por las múltiples ventajas que ofrece, a saber: obtención de grandes volúmenes de producción a partir de poco material vegetal al inicio, en períodos cortos y superficiales reducidas, alta calidad

sanitaria del material, incremento de los rendimientos por utilizar material saneado y rejuvenilizado, material disponible en cualquier época del año, facilidad de transporte e intercambio de material a nivel nacional e internacional.

### **2.5.1 Factores a Considerar para el Establecimiento de Cultivos de Tejidos Vegetales *in vitro***

Según Mendoza (2008), para el establecimiento de los cultivos utilizando cualquiera de los sistemas es necesario tener en cuenta algunos aspectos generales comunes relacionados:

- a) **Calidad de la planta madre.** La planta madre es determinante para el éxito de los cultivos *in vitro*. Entre mejores sean las condiciones fitosanitarias y edad fisiológica de la planta madre, mayor será la calidad y respuesta de los explantes. La edad fisiológica determina el tipo y la velocidad de la morfogénesis. Época del año determina el estado fisiológico en el que se encuentra la planta donadora y el explante al momento de la siembra.
  
- b) **Explante.** Varios factores deben ser tenidos en cuenta en la elección del explante apropiado para el establecimiento de los cultivos *in vitro*. La elección del explante para establecer material vegetal a condiciones *in vitro* dependerá del:
  - **Objetivo del cultivo.** Se podría esquematizarlas en aplicaciones para obtención de plantas con sanidad controlada y micropropagación.
  
  - **Posibilidad de contaminación con microorganismos.** De ser posible, se deben cultivar explantes de plantas donadoras que crecen en condiciones de invernadero, con ello se reduce sustancialmente las tasas de contaminación. Por otra parte, es recomendable evitar el uso de «explantes sucios» (raíces, rizomas) que provienen de plantas crecidas en macetas o en el campo, dado que en la mayoría de los casos no es posible conseguir una buena desinfección de los mismos.

- **Edad fisiológica del explante.** Este es un aspecto de gran influencia en la morfogénesis. Como regla general se puede decir que cuando más joven e indiferenciado se encuentre el explante a cultivar, mejor será su respuesta *in vitro*. Es por ello que los meristemas apicales y axilares son ampliamente usados en numerosas especies. En el caso de la micropropagación de plantas leñosas, la edad del explante es un factor crítico. Si los tejidos son jóvenes, la micropropagación tiene mayores posibilidades de ser exitosa que con tejidos maduros. Este hecho genera la necesidad de realizar tratamientos de rejuvenecimiento de las plantas dadoras de explantes.
  
  - **Tamaño del explante.** En general, cuanto más grande sea el explante mayores serán las posibilidades de inducir la proliferación de callos o la regeneración directa de órganos. Sin embargo, a mayor tamaño de explante también son mayores las probabilidades de que los cultivos se contaminen con microorganismos. También es necesario tener en cuenta que existe un tamaño mínimo del explante, que depende de la especie y del material vegetal, por debajo del cual no es fácil lograr el establecimiento de los cultivos. Los explantes muy pequeños suelen requerir del empleo de medios más complejos o de los denominados medios acondicionados.
  
  - **Época del año.** Es un factor que suele tener mucha importancia en la micropropagación y que generalmente está asociado al grado de dormición que presentan ciertos explantes (yemas, por ejemplo) y también con la posibilidad de mayor o menor proliferación de microorganismos. También puede lograrse explantes de plantas en estado de latencia.
- c) **Normas de asepsia.** Uno de los principales problemas que se presentan cuando se tratan de establecer los cultivos es el de la contaminación de los mismos con diversos tipos de microorganismos (hongos, levaduras, bacterias, fitoplasmas, virus). Dos son las fuentes de contaminaciones: microorganismos presentes en el interior o en la superficie de los explantes y fallas en los procedimientos de cultivo en el laboratorio.



- d) **Medios de cultivo.** Un medio de cultivo puede ser definido como una formulación de sales inorgánicas y compuestos orgánicos requeridos para la nutrición y manipulación de los cultivos.
- e) **Condiciones ambientales para la incubación.** La incubación de los cultivos se debe llevar a cabo en condiciones controladas. Por lo menos en lo que se refiere a temperatura, calidad e intensidad de luz, fotoperíodo, humedad atmosférica e higiene. Estas condiciones se logran con el empleo de cámaras climatizadas o cuartos especialmente preparados con aire acondicionado (frío-calor), una buena y uniforme circulación de aire en el interior, dotados de un buen sistema de alarma para interrumpir la iluminación en caso de no funcionar el aire acondicionado.

En general, los cultivos son incubados a temperatura constante de 25 - 28 °C, con ciclo de luz/oscuridad de 16/8 horas. La luz es generalmente provista por lámparas fluorescentes del tipo «luz día» con una irradiancia de entre 50 y 200  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . La humedad atmosférica debe ser elevada (80 - 90%).

### 2.5.2 Micropropagación

La micropropagación es una técnica de propagación de un genotipo seleccionado y el aislamiento de una parte de ella, llamado explante, usando en él técnicas de cultivo *in vitro*; es decir multiplicación asexual *in vitro*. La micropropagación, está asociado con la producción en masa de productos vegetales a un precio competitivo. Micropropagación, es prácticamente una multiplicación masiva *in vitro* reproduciendo plantas similares a la planta madre (Mendoza, 2008).

El mismo autor indica el proceso de micropropagación, tiene las siguientes fases:

- Fase 0: preparación de la planta madre.
- Fase 1: establecimiento o iniciación de los cultivos (aséptico).
- Fase 2: multiplicación o propagación *in vitro*.
- Fase 3: enraizamiento de las vitroplantas.

- Fase 3a: crecimiento de la plántula *in vitro*.
- Fase 3b: inducción de raíz y pre-aclimatación.
- Fase 4: trasplante - aclimatación de las vitroplantas enraizados.
- Fase 5: invernadero - campo.

Abdelneur y Vicent (1994); citado por Quezada (1999); Salas (1995); Mendoza (2008); la micropropagación ofrece las siguientes ventajas:

- Producción de gran número de plantas a partir de un explante.
- La propagación *in vitro* es más rápida que in vivo.
- Plantas producidas *in vitro* crecen más rápidamente (efecto de la rejuvenilización y de la eliminación de virus).
- La obtención de plantas puede ser en cualquier época del año.
- Las plantas pueden almacenarse *in vitro* ocupando poco espacio.
- Disminuyen las labores de mantenimiento.
- Obtención de clones de plantas donadoras de alta calidad.
- Producción comercial de las especies resulta redituable (difusión más rápida de todo nuevo genotipo).
- Reducción del tiempo de multiplicación.
- Posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida.
- Mayor control fitosanitaria del material que se propaga.
- Facilidad en el intercambio de material *in vitro*.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una especie de la cual existen pocos individuos.

Las desventajas de la micropropagación Salas (1995) y Mendoza (2008):

- No todas las especies responden igual al cultivo *in vitro*.
- Cada especie requiere de métodos particulares de cultivo.
- La fase de investigación es costosa.
- La clonación puede producir el empobrecimiento genético de las especies.
- Con algunos sistemas, no hay estabilidad genética.

- Plantas producidas in vitro pueden tener malas características en el campo.
- Inducción del enraizamiento es a veces casi imposible.
- En algunos casos, no se pueden obtener plantas libres de patógenos.
- Requiere de personal especializado.
- Requiere de infraestructura y equipamiento.
- Los productos químicos son de elevado costo.

## 2.6 Hidroponía

Según el Grupo Latino (2006), hidroponía significa literalmente cultivo (*Ponos*) en agua (*Hidros*). Hidroponía se define como una ciencia de cultivo de plantas sin uso de la tierra, pero con uso de medio inerte como arena, cascarilla de arroz, grava, aserrín, entre otros; a los que agrega una solución de nutrientes con todos los elementos esenciales requeridos por la planta para su crecimiento y desarrollo normal

Al respecto Álvarez (2007), la hidroponía es la técnica de cultivar sin tierra. Se puede decir que hay tres formas de hacer ésto:

- a) **En medio líquido:** Las raíces están sumergidas en solución nutritiva, en la cual se regulan constantemente su pH, aireación y concentración de sales. Esta técnica no es muy recomendable para principiantes (aprendices). Una variante es la recirculación constante de la solución nutritiva en contacto con la parte baja de la raíz; esta es llamada Técnica de Película Nutriente (NFT, en inglés). La planta es sostenida por medios mecánicos.
- b) **En sustrato sólido inerte:** Se parece en muchos aspectos al cultivo convencional en tierra y es el más recomendado para quienes se inician en hidroponía. En lugar de tierra se emplea algún material denominado sustrato, el cual no contiene nutrientes y se utiliza como un medio de sostén para las plantas, permitiendo que estas tengan suficiente humedad, y también la expansión del bulbo, tubérculo o raíz.

- c) **Aeroponía:** Las raíces se encuentran suspendidas al aire, dentro de un medio oscuro y son regadas por medio de nebulizadores, controlados por temporizadores. Tampoco es recomendada para principiantes.

La hidroponía es un excelente medio para estudiar y conocer la fisiología nutricional de las raíces y tuberosas andinas, aún poco estudiadas y con gran potencial para la alimentación (CIHNM-UNALM, 1996). Dentro de las técnicas de cultivo que el hombre ha desarrollado durante miles de años, la hidroponía representa lo más avanzado y moderno. Es sin duda, la forma de cultivar del futuro (Filippetti, 2007).

### 2.6.1 Ventajas del Cultivo Hidropónico

La FAO (2003) y Filippetti (2007), mencionan algunas ventajas que tiene este sistema de cultivo hidropónico:

- Cultivo libre de patógenos.
- Reducción de costos de producción.
- Permite la producción de semilla pre-básica a partir de plántulas *in vitro*.
- Independencia de los fenómenos meteorológicos.
- Permite producir cosechas en contra-estación.
- Menos espacio y capital para una mayor producción.
- Ahorro de agua, que se puede reciclar.
- Ahorro de fertilizantes, fungicidas e insecticidas.
- Limpieza e higiene en el manejo del cultivo.
- Mayor precocidad de los cultivos.
- Alto porcentaje de automatización.
- Se puede cultivar en interiores, balcones, terrazas, patios, invernadero, etc.
- Se acorta el período de cultivo (el desarrollo de la planta es más rápido).
- La presentación de los productos obtenidos es superior a la de los cultivados en tierra.

- El sistema de cultivo hidropónico, permite la incorporación de personal, que por sus características (avanzada edad, discapacitados, etc.) no podrían realizar tareas en los cultivos tradicionales.
- Resuelve el problema del cansancio del suelo.

## **2.6.2 Nutrición Hidropónica**

Según el Grupo Latino (2006) y la FAO (2003), las sales nutritivas se preparan con base a los requerimientos de las plantas a cultivar. Por lo general contienen principalmente macroelementos: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre y; como microelementos: manganeso, cobre, zinc, hierro, boro, cloro y molibdeno. Estos componentes se adicionan en forma de soluciones concentradas a través de sales como: fosfato monoamónico, nitrato de calcio, nitrato de potasio las cuales forman la solución "A" (nutriente mayor) y la solución "B" (Nutriente menor) compuesto por las sales sulfato de magnesio, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, sulfato de zinc, ácido bórico, molibdato de amonio, quelato de hierro como se muestra en el Cuadro 2 del Anexo. La falta de algún nutriente origina un retardo del crecimiento y disminución del rendimiento (Todopapa, 2008).

También mencionan que dichas soluciones concentradas son disueltas en una proporción de 5:2, es decir 5 ml de solución concentrada "A" y 2 ml de solución concentrada "B" para un litro de solución nutritiva (agua para regar), realizando un riego de 2 a 3,5 litros de solución nutritiva por metro cuadrado, esto depende de la temperatura y el clima del lugar. Además que estas soluciones concentradas fueron probadas en más de 30 hortalizas, obteniéndose resultados óptimos en las mismas.

Existen un gran número de soluciones nutritivas para distintos cultivos, y muchos cumplen con los requerimientos de un número de especies. Sin embargo, cada cultivo tiene sus propias exigencias nutricionales (CIHNM-UNALM, 1996).

La preparación de la solución nutritiva puede ajustarse de acuerdo a las condiciones del cultivo, es decir, el tipo de planta, la edad, las condiciones climáticas, etc. La experiencia puede ser la mejor indicadora de la fórmula ideal. La concentración de sales y el pH

influyen en el funcionamiento de la planta; las raíces obtienen los nutrientes por ósmosis a nivel de los pelos radiculares; así cuando la concentración o el pH no son los adecuados para la planta que quiere cultivar, se obstaculizará el proceso de ósmosis y la planta no sobre-vivirá (GCA, 2006).

## **2.7 Sustrato o Suelos Artificiales**

Llamamos sustratos a los suelos artificiales preparados, que se utilizan para el cultivo de diversas plantas; especialmente en maceteros, las ornamentales, cultivadas en invernadero. Además de servir de soporte y anclaje de la planta, los sustratos o suelos artificiales deben suministrar a la planta las cantidades adecuadas de aire, agua y nutrientes minerales (Lorente, 1997; citado por Castellón, 2000).

El mismo autor menciona que si las proporciones de estos componentes no son las adecuadas, el crecimiento de la planta puede verse afectado y originar diversos problemas, entre los cuales: asfixia, deshidratación, exceso o carencia de nutrientes minerales y enfermedades.

Fauba (2006), denomina sustrato a un medio sólido inerte que cumple dos funciones esenciales: a) anclar y aferrar las raíces protegiéndolas de la luz y permitiéndoles respirar, y b) contener el agua y los nutrientes que las plantas necesitan.

Los sustratos pueden clasificarse en orgánicos (de origen natural, de síntesis, de subproductos o de residuos agrícolas, industriales y urbanos) e inorgánicos o minerales (de origen natural, transformado o tratados, y residuos o subproductos industriales) (Cahiers, 1999).

Entre los sustratos empleados comúnmente en hidroponía se cuentan: arena, grava, ladrillos quebrados y/o molidos, perlita, vermiculita, turba vegetal, aserrín, resinas sintéticas, cascarilla de arroz, carbón vegetal, etc. (Grupo Latino, 2006).

### **2.7.1 Características Físicas de los Sustratos**

Existen dos características importantes que un sustrato debe tener: una estructura física favorable y estar libre de contaminantes o materiales tóxicos (Ecke *et al.*, 1990; citado por Castellón, 2000). El sustrato hidropónico deben ser inerte, no debe contener sustancias que reaccionen con la solución nutriente, no contener sustancias tóxicas para las plantas (GCA, 2006).

El sustrato es el soporte de la planta donde se desarrollan las raíces y donde éstas deben encontrar el agua y los elementos necesarios para su crecimiento (Jiménez, 1999; citado por Plaza, 2002). Según Sánchez (2004), la función del sustrato es la de proporcionar a la planta un medio de sostén, retener humedad y la solución nutritiva de la planta, dándole oxigenación, protegiendo a la raíz de la luz.

### **2.7.2 Características Químicas Favorables de los Sustratos**

El pH de los sustratos de crecimiento es muy importante para la disponibilidad de alimentos para la planta. El grado óptimo de pH está entre 5,8 - 6,2, en este rango todos los elementos esenciales están disponibles para la planta y el crecimiento debe ser normal o libre de deficiencias (Ecke *et al.*, 1990; citado por Castellón, 2000).

Según Darías (1993); mencionado por Plaza (2002), el sustrato debe ser un medio uniforme en el cual la planta crezca adecuadamente tenga el pH requerido y con suficiente porosidad, para permitir el drenaje y aireación adecuado.

### **2.7.3 Intercambio Adecuado de Aire y Agua**

Ecke *et al.*, (1990); citado por Castellón (2000), menciona que los espacios porosos más pequeños son los que contribuyen a una mayor retención de humedad, pero una buena proporción de espacios porosos de tamaño grande es muy deseable para asegurar el flujo adecuado de agua y aire en el sustrato para favorecer la actividad de la raíz.

El sustrato en el que las raíces crecen debe ser lo suficientemente fino para mantener un adecuado nivel de humedad, pero a la vez no tan fino, con el objeto de permitir una aireación eficiente (GCA, 2006).

#### **2.7.4 Elección del Material para Preparar los Sustratos**

Según el Grupo Latino (2006), la elección de un material u otro está determinada por varios factores: la disponibilidad del mismo, la finalidad de la producción, su costo, las propiedades físico-químicas y las experiencias previas en su utilización.

Según Castellón (2000) y Jiménez (1999); citado por Plaza (2002), indica que un sustrato deben cumplir las siguientes características para ser empleados en la preparación de mezclas:

- Ser inerte química y biológicamente.
- No contener elementos tóxicos o microorganismos patógenos para las plantas.
- Tener un tamaño uniforme.
- Que posea una buena capacidad de retención de humedad, a la vez que posea buena aireación.
- Mojabilidad, si se seca el sustrato debe ser capaz de volverse a mojar con facilidad.
- Debe tener una uniformidad química y física del medio.
- Tener estabilidad cuando es expuesto a tratamientos tanto químicos como térmicos.
- Estabilidad física, dirigida a evitar la compactación.
- Acidez, el pH óptimo debe estar situado entre 5,5 y 6,5.
- Peso adecuado para tener buena porosidad.
- Drenaje, por lo menos el 20% de espacio poroso.
- Sanidad, desinfección previa de los materiales.
- Capacidad de retención de nutrientes, CIC debe estar 15 y 50 meq/100 cm.
- Debe ser de bajo costo.



## **2.7.5 Sustrato Inorgánico - Arena**

Denisen (1990); citado por Chacolla (2001), señala que la arena es el medio más utilizado para la propagación de las plantas, porque presenta buena aireación y proporciona condiciones para un buen crecimiento de las raíces. Su costo es bajo y está disponible en cantidades suficientes.

El mismo autor menciona la arena no tiene la humedad por lo que necesita riegos más frecuentes. La arena debido a que no presenta materia orgánica o contiene muy poca, no alberga a la mayoría de los organismos patógenos. Es baja en contenido de nutrientes y de esta manera las plantas deben trasplantarse poco después del enraizamiento.

La arena es una de las sustancias más utilizada en la mezcla de sustratos, aunque se emplea en pequeñas cantidades. La arena mejora la estructura del sustrato pero aporta peso al mismo (Izquierdo, 2003).

Según Calderón (2001), las arenas utilizadas no deben contener elementos nocivos tales como sales, arcillas o plagas. El grano no debe ser grueso. La arena de río, que es la mejor, debe estar limpia para ser utilizada en sustratos.

## **2.7.6 Sustratos Orgánicos**

### **2.7.6.1 Cascarilla de Arroz**

Es un sustrato orgánico inerte, antes de sembrar o trasplantar sobre ella, es necesario lavarla o dejarla fermentando bien humedecida durante 8-20 días según el clima de la región. Con esto se eliminan semillas de arroz y de malezas que podrán germinar cuando ya se haya establecido el cultivo. Además, con el lavado se elimina almidón procedente de los granos de arroz, que al fermentarse puede afectar la asimilación de los nutrientes o quemar las raíces (FAO, 2003).

El tamaño de partícula es ligeramente mayor al del aserrín. La cascarilla se incorpora con facilidad a un medio para mejorar el drenaje, su peso es ligero, no introduce plagas pero es recomendada la desinfección del sustrato porque contiene muchas semillas de malezas (OIRSA, 2002).

La forma utilizada para mejorar la retención de humedad fue la mezcla la cascarilla de arroz con otros materiales tales como la escoria de carbón y la arena de río. En la actualidad también se puede utilizar cascarilla de arroz semiquemada como sustrato para los cultivos hidropónicos de clavel y rosas (Calderón, 2001). El principal inconveniente que presenta es su baja capacidad de retención de humedad y lo difícil que es lograr el reparto homogéneo de la misma.

Además, la cascarilla de arroz es un subproducto muy rico de celulosa y en sílice, abrasivo de escaso valor nutritivo, es aprovechado por su volumen, posee una baja densidad aparente de 110 a 160 kg/m<sup>3</sup> (Agraria, s.f.).

Marulanda (1997); citado por Plaza (2002), indica la cascarilla de arroz tiene las siguientes características, ventajas y propiedades físico químicas:

- Posee baja tasa de descomposición.
- Es liviana, inerte.
- No tiene la humedad, provee alta aireación así como buen drenaje.
- Su densidad está entre 0,12 a 0,13 g/ml.
- Su capacidad de intercambio catiónico es de 2 a 4 meq/ 100 ml.
- La capacidad de retención de humedad es del 11%.
- El mismo autor, afirma que este tipo de sustrato, es ideal para huertas hidropónicas y otro tipo de cultivo.

#### **2.7.6.2 Aserrín**

El aserrín es un sustrato orgánico inerte de maderas, pero que no sean rojas ni de pino, porque contienen sustancias que pueden afectar a las raíces de las plantas. Si se

consigue aserrín de estas maderas, se lava con abundante agua y se deja fermentar durante 10 días antes de usarlo. Además el aserrín debe ser apenas una pequeña parte (entre 15 a 20%) del total de sustrato que se coloca en una cama de cultivo. Conviene lavarlos con agua caliente antes de mezclarlos (Calderón, 2001). Marulanda (1997); citado por Plaza, (2002) el aserrín se pone como sustrato en las plantas para frenar la evaporación de la humedad y favorecer la aireación.

El aserrín es el residuo de la madera más común y más ampliamente distribuido. La especie de árbol del cual deriva, influye en la durabilidad del aserrín y la cantidad de nitrógeno complementario requerido para mantener un crecimiento normal de las plantas. Todos los tipos de aserrín mejoran las condiciones físicas del sustrato. El tamaño de la partícula permite que su mezcla con otros componentes sea sencilla. Su efecto sobre la acidez es casi nulo (OIRSA, 2002).

El aserrín presenta propiedades físicas favorables, el porcentaje de porosidad es grande por lo que permite el intercambio gaseoso, así como el flujo, el almacenamiento y drenaje de agua; conserva la temperatura del sustrato constante (Barreira, 1979).

Según Calderón (2002) y FAO (2003), indican que las propiedades físicas de aserrín dependen del tamaño de sus partículas, y se recomienda que el 20-40% de dichas partículas sean con un tamaño inferior a los 0,8 mm constituyendo un sustrato ligero, con una densidad aparente de 0,1 a 0,45 g/cm<sup>3</sup>. La porosidad total es superior al 80 a 85%, la capacidad de retención de agua es de baja a media, siendo su capacidad de aireación muy elevada. El pH varía de medianamente ácido a neutro. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es de 55 meq/100 gramos.

Al respecto Álvarez (2007), Aserrín tiene..."Su capacidad de retención de agua, así como su espacio poroso se pueden variar de acuerdo al tamaño de sus partículas. Dado que el aserrín es un sustrato orgánico rico en carbono y pobre en nitrógeno, se debe considerar que cuando se irriga con la solución nutritiva se presenta frecuentemente un proceso de descomposición parcial de ésta por bacterias que utilizan principalmente el nitrógeno de la solución para su crecimiento, fijándolo temporalmente, lo que puede dar lugar a una

deficiencia de este elemento en las plantas cultivadas en este sustrato. Por ello se considera conveniente realizar un compostado de éste, previo a su uso como medio de cultivo. El sustrato estará listo para ser usado a los 40 días de iniciado el compostado, después de un lavado con agua. La esterilización del aserrín deberá hacerse con productos químicos y no con calor, pues este último libera productos tóxicos para las plantas. Se debe considerar también que hay algunas especies forestales como el cedro rojo, cuyo aserrín desprende sustancias tóxicas que impiden el desarrollo normal de las plantas..."

### **2.7.6.3 Paja Brava**

Paja brava es una hierba que habita en gran cantidad en el altiplano, el cual es un alimento para animales de pastoreo, utilizada para construcciones. El cual es un material de bajo costo que se puede recolectar del lugar para su uso y ser utilizada en las investigaciones similar que aserrín y mezclar con arena de río (Gómez, 2008).

## **2.8 Genotipo**

Según Mellado (2004), el genotipo es la composición genética de un organismo, es decir, la suma total de sus genes, tanto dominantes como recesivos. También puede referirse a un grupo de individuos con la misma composición genética.

## **2.9 Papas Nativas**

Según PROINPA (1994), la papa (*Solanum* sp) es originaria de la zona andina. En Bolivia se encuentran ocho especies diferentes de papa nativas y más de treinta especies silvestres. Posee un banco de germoplasma de papa que conserva más de 1200 accesiones entre los cuales pueden encontrar alrededor de 700 variedades diferentes provenientes de toda la zona andina del país. Toda esta variabilidad ahora es un legado a las generaciones actuales y futuras de Bolivia y el mundo. Esta riqueza boliviana de tubérculos nativos posee características extraordinarias con grandes potencialidades y ventajas para su cultivo, seguridad alimentaria para la población. Además, las papas

nativas en Bolivia tienen una amplia adaptación que va desde los 1700 a los 4300 m.s.n.m. con rendimientos que varían desde 4 toneladas por hectárea hasta 28 toneladas por hectárea.

### **2.9.1 Importancia de las Papas Nativas**

La variabilidad de papa nativa se cultiva en diversas regiones agroecológicas eminentemente paperas de La Paz, Cochabamba, Potosí, Chuquisaca, Oruro, Tarija y Santa Cruz. Al sobrevivir a sequías, inundaciones, calor, fríos extremos, plagas y enfermedades, estos recursos también se convierten en una excelente fuente para el mejoramiento genético que permitirá obtener cultivos con mayor eficiencia productiva (PROINPA, 1994).

Las especies nativas y silvestres constituyen un reservorio de genes de valor incalculable por sus características de resistencia a plagas y enfermedades, así como por su adaptación a factores abióticos y climáticos como heladas, sequía, granizo, suelos salinos, suelos ácidos (Carrasco, 2004).

La importancia de las papa nativas radica: en contener fuentes de resistencia a enfermedades, valiosa de genes resistentes como virus (PVX, PVY, y PLRV), nematodos (*Nacobbus aberrans*), verruga (*Synchytrium endobioticum*) y heladas de especies *Solanum Juzepczukii*, *S. Curtilobum*, *S. Ajahuiri*, *S. stenotomun*, *S. phureja* y *S. andigena* (Gabriel, 1999). Por ello existen variedades nativas que se producen exclusivamente en regiones frías como Lukis, Ajahuiris, Imillas, Palas, Palis, Qoyllus y Katis (PROINPA, 1994).

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Localización**

#### **3.1.1 Ubicación Geográfica**

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales del Centro de Investigaciones Nucleares (CIN), dependiente del Instituto Boliviano de Ciencia y Tecnología Nuclear (IBTEN). Se encuentra en la provincia Ingavi a 3 km de la ciudad de Viacha y a 35 km de la ciudad de La Paz, ubicado geográficamente entre los paralelos 16° 39´ 31,6" latitud Sud y 68° 16´ 51,2" longitud Oeste y a una altitud de 3865 +/- 8,0 msnm.

#### **3.1.2 Descripción Climatológica**

Según Palacio (2002), las características climatológicas están dadas por los siguientes parámetros (tomadas de la estación Meteorológica del CIN-Viacha en un período de 20 años):

- precipitación pluvial media anual 542 mm,
- nubosidad 3,33 octavos,
- temperatura media anual de 7,1°C,
- temperatura mínima absoluta -3,4°C,
- temperatura máxima absoluta 16,6°C,
- humedad relativa media anual 57,8%,
- evaporación 4,7 mm/día,
- velocidad del viento 8,747 km/h y 13,34 días con heladas.

## **3.2 Materiales**

### **3.2.1 Material Vegetal**

La elección de estos genotipos nativos fue debido al valor comercial y la demanda de las comunidades de la Provincia Aroma, supervisadas por la organización no gubernamental Kurmi, debido a su adaptación, rusticidad y buena productividad.

Se utilizaron tubérculos de tres genotipos de papas nativas: Pali blanca, Sacampaya y Polonia, previamente establecidas *in vitro*, provenientes de la colección de germoplasma del Laboratorio de Biotecnología Vegetal (CIN-IBTEN). Las características morfológicas observadas en invernadero de estos genotipos de papa nativa fueron las siguientes:

#### **a) Pali Blanca**

**Las características morfológicas son (Figura 1):**

- Color de la flor: lila rosada; forma de la flor: pentagonal; hábito de botón floral: abundante.
- Disección de hoja: medianamente disectada.
- Forma del tubérculo: ovada aplanada con ojos (yemas) muy superficiales; color de la piel: crema con manchas de color lila mayormente en yemas terminales; color de la pulpa: blanca.

**Las características agronómicas:**

- Hábito de crecimiento: decumbente.
- Ciclo vegetativo desde aclimatación hasta la floración: 97 días.
- Rendimiento total: 2,276 kg/m<sup>2</sup>.



**Figura 1. Características morfológicas observadas en invernadero:  
Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Pali blanca.**

## **b) Sacampaya**

**Las características morfológicas son (Figura 2):**

- Color de la flor: blanca; forma de la flor: pentagonal; habito de botón floral: abundante.
- Disección de hoja: medianamente disectada.
- Forma del tubérculo: alargada y medianamente curvada con ojos superficiales; Color de la piel: roja con áreas amarillas; color de la pulpa: crema.

**Las características agronómicas:**

- Hábito de crecimiento: decumbente.
- Ciclo vegetativo desde aclimatación hasta la floración: 87 días.
- Rendimiento total: 2,127 kg/m<sup>2</sup>.



**Figura 2. Características morfológicas observadas en invernadero:  
Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Sacampaya.**



### c) Polonia

#### Las características morfológicas son (Figura 3):

- Color de la flor: lila rosada; Forma de la flor: pentagonal; Habito de botón floral: abundante.
- Disección de Hoja: Medianamente disectada.
- Forma del tubérculo: ovado con ojos (yemas) superficiales; Color de la piel: crema con ojos rosadas, Color de la pulpa: crema.

#### Las características agronómicas:

- Hábito de crecimiento: decumbente.
- Ciclo vegetativo desde aclimatación hasta la floración: 97 días,
- Rendimiento total: 2,158 kg/m<sup>2</sup>.



**Figura 3. Características morfológicas observadas en invernadero:  
Botón floral, flor, hoja y tubérculo del genotipo de papa Polonia.**

### 3.2.2 Material Instrumental y Equipo de Laboratorio

Se utilizó una cámara de flujo laminar, autoclave, balanza analítica, pH metro, microonda, matraz erlenmeyer de 200 ml, pipetas de 5 y 25 ml, probeta graduada de 1000 ml, frasco pirex de 200 y 400 ml, cajas petri, tubos de ensayo, mechero, plastifilm (plástico), papel aluminio, algodón, bandejas, magentas de 10x10 cm, pinzas de disección, pissetas de 400 ml, bisturí N° 11, mango de bisturí, bomba de succión, vasitos sin ranura, espátulas,

cucharilla, tijera pequeña, gotero, regla, barbijo, gorra, guardapolvo y marcador indeleble color negro (Cuadro 3 del Anexo).

### **3.2.3 Reactivos y Soluciones**

Se utilizó: Solución Stock Murashige y Skoog (1962), (Cuadro 1 del Anexo); agente gelificante (agar), sacarosa, alcohol al 70%, alcohol al 96%, agua destilada esterilizada, desinfectante de sustratos, fungicidas (Formol al 40%, Benomyl, Dithane, Rancol, Cobrethane, Ran-Caf, Indar, Bravo), Insecticida (Curacron), fertilizante foliar (Nitro-Foska-maduración), Fosfato diamónico (FDA) y Solución hidropónica (Cuadro 2 del Anexo).

### **3.2.4 Material de Invernadero**

Se utilizó: sustratos de cascarilla de arroz, aserrín, paja brava, mezclada cada una con arena, camas de producción, nylon negro, malla milimétrica, tela blanca, palas, picota, rastrillo, carretilla, escoba, fumigadora, guardapolvo, barbijo, guantes de goma, clavos, lienzo (para redes), regadores, baldes (recipientes), manguera de 15 m, vasos blancos (plásticos) para aclimatación, vernier, flexo metro, letreros, marbetes (para muestras), cámara fotográfica, alicate, martillo, cal y termómetro.

## **3.3 Metodología**

Para la producción de semilla pre-básica de papa nativa se utilizaron plántulas *in vitro* hacia su posterior aclimatación en invernadero, para lo cual se desarrollaron en dos etapas: fase de laboratorio e invernadero, para ello se siguieron los siguientes pasos:

### 3.3.1 Fase de Laboratorio

#### 3.3.1.1 Estructura

El laboratorio consta de cuatro salas muy importantes: a) Sala de preparación de medios de cultivo y lavado, b) Sala de esterilización, c) Sala de micropropagación (ambiente aséptico de corte) y d) Sala de crecimiento.

- a) **Sala de preparación de medios de cultivo y lavado.** Es una habitación de 24 m<sup>2</sup>, con mesones revestidos con nylon transparente en tres lados de su perímetro, con un lavadero para el aseo de los materiales, sobre los mesones han sido dispuestos los equipos y materiales para la preparación y esterilización de medios de cultivo y materiales para la micropropagación, sobre las paredes se disponen estantes con material de vidrio, refrigerador, vitrina para los reactivos y materiales que no requieren refrigeración.
- b) **Sala de esterilización.** Una sala de 14 m<sup>2</sup>, con un autoclave automática con capacidad de 40 cajas plásticas (magentas 10x10 cm) por autoclavado (un litro de medio de cultivo), dos refrigeradores para guardar soluciones y reactivos y dos cámaras de germinación.
- c) **Sala de micropropagación.** Esta sala tiene 7 m<sup>2</sup> al igual que la cámara de crecimiento sólo permite el ingreso del personal de micropropagación; Para mantener la asepsia en los cultivos se utilizó una Cámara de flujo laminar horizontal de aire unipersonal, mediante la cual se pudo trabajar dentro de un ambiente completamente aséptico para el establecimiento, manipulación e introducción de los explantes a medios nutritivos.
- d) **Sala de crecimiento.** Está provista de dos bloques de estantes con placas de 0,40 m de ancho x 2,00 m de altura, con tres tubos fluorescentes cada división; este ambiente tiene una superficie iluminada útil de quince metros cuadrados, cuenta con un termómetro (Figura 5). Las condiciones físicas de la sala de crecimiento

fueron las siguientes: la iluminación tenía una irradiancia de 50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , 23 °C de temperatura como promedio, humedad relativa superior al 70% y un fotoperiodo de diez y seis horas de luz y ocho de oscuridad, con control automática proporcionando por un temporizador (Timer).

### **3.3.1.2 Desinfección y Esterilización de Ambientes, Equipos y Materiales de Trabajo**

Todos los ambientes, equipos y materiales de trabajo inicialmente fueron limpiados y esterilizados, para eliminar los riesgos de contaminación. Los ambientes fueron primero limpiados, lavados con detergente y posteriormente lavados con hipoclorito de sodio al 2%. Todo el material de trabajo que se utilizó dentro de la cabina de flujo laminar, primeramente fue esterilizado en autoclave a una atmósfera de presión y una temperatura de 121 °C, durante 15 minutos. El lugar de trabajo de la Cámara de flujo laminar de aire fue desinfectado con alcohol al 70% (v/v) y lavandina al 0,5% (v/v).

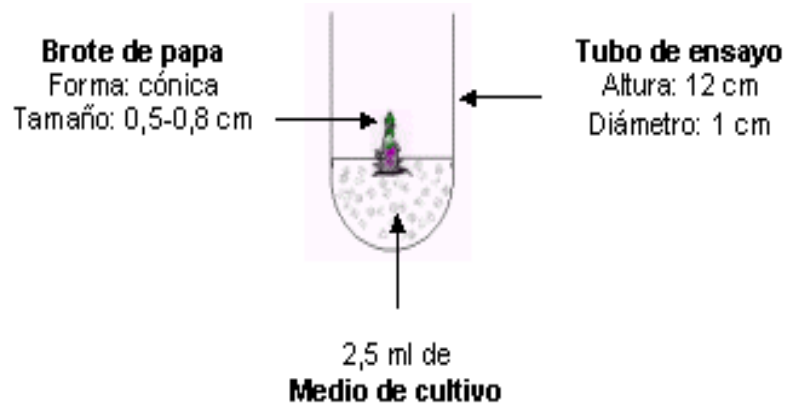
### **3.3.1.3 Preparación de Medio de Cultivo**

Antes de la introducción y micropropagación de los tres genotipos de papa nativa (Pali Blanca, Sacampaya y Polonia) como primer proceso se preparó el Medio de Cultivo utilizado fue el de Murashige y Skoog (1962); y modificado por CIN-IBTEN (2007), suplementado con sacarosa 30  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (3% p/v), agar 6,5  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (0,65% p/v). Antes de agregar el agar al medio de cultivo se ajustó el pH a 5,7 utilizando hidróxido de sodio (0,1 N) y/o Ácido clorhídrico (0,1 N) según sea el caso (Cuadro 4 del Anexo). Posteriormente distribuidas en los tubos de ensayos de 12 cm de altura por 1 cm de diámetro a razón de 2,5 ml (para la introducción de brotes), en vasitos de 8 cm de altura y 5 cm de diámetro a razón de 7 ml y en magentas de 10x10 cm a razón de 25 ml de medio de cultivo por magenta (para la multiplicación) y, sellados con papel de aluminio y autoclavados a una atmósfera de presión durante 15 minutos a una temperatura de 121° C.

### 3.3.1.4 Introducción de Brotes y Micropropagación *in vitro*

Para el establecimiento del material vegetal y su multiplicación se siguió el siguiente proceso:

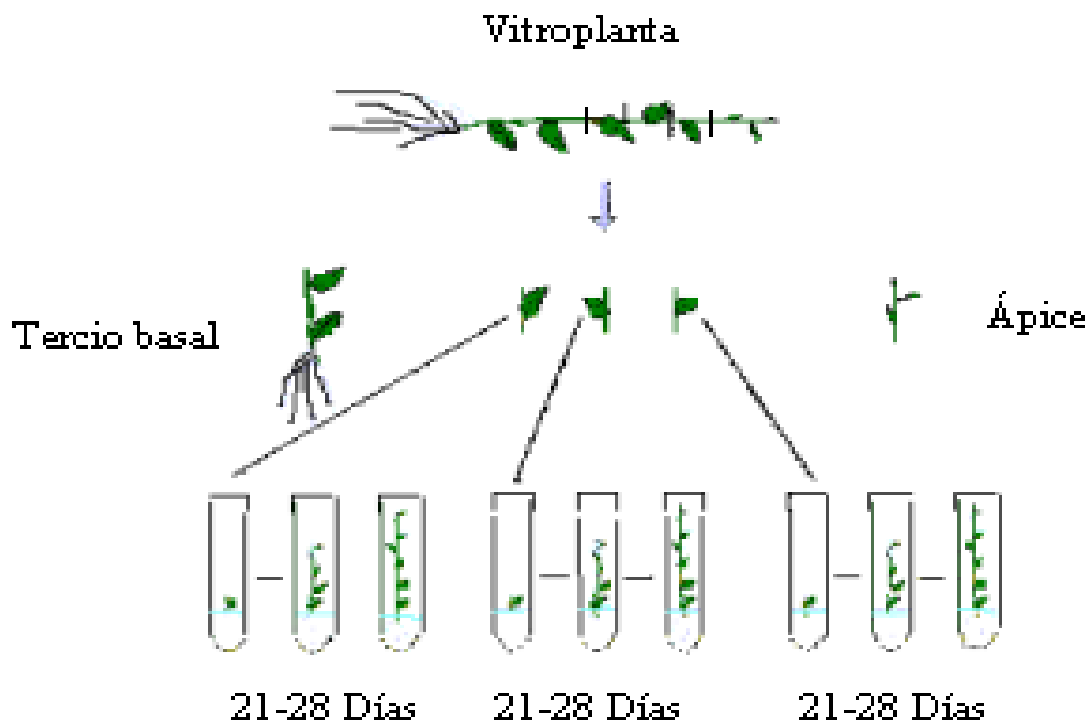
- a) **Introducción de brotes.** Bajo condiciones asépticas se desbrotaron los brotes del tubérculo (puntas apicales) de los tres genotipos de papa nativa, con una forma cónica y tamaño aproximado de 0,5 a 0,8 cm de longitud, las cuales pasaron por un proceso de desinfección de 30 segundos en alcohol al 70% (v/v) y 15 minutos en hipoclorito de sodio al 2,5% (v/v) para posteriormente enjuagados tres veces con agua destilada estéril; finalmente fueron sembrados en tubos de ensayo que contenían 2,5 ml del medio de cultivo sólido preparados con anticipación (Figura 4). Luego han sido llevadas todos los explantes sembradas a la sala de crecimiento.



**Figura 4. Forma de introducción de un brote de papa nativa en un tubo de ensayo con 2,5 ml de Medio de Cultivo.**

Según Corzo (2000) el desbrote se hace en forma manual, para ello las manos se deben desinfectar, lavándolas con agua y detergente, antes de hacer el desbrote. Para desprender los brotes de los tubérculos, se toman con las yemas de los dedos y se giran suavemente, sin necesidad de utilizar cuchillas u otras herramientas que causen heridas. Se pueden hacer hasta tres cosechas de brotes, dejando pasar 15 a 20 días entre cada cosecha. Los brotes se pueden sacar el mismo día de la siembra *in vitro* o un día antes y se deben guardar en un lugar fresco mientras se siembran. Los tubérculos ya desbrotados se deben guardar nuevamente bajo luz indirecta, para que broten nuevamente (Figura 8 del Anexo).

**b) Multiplicación *in vitro*.** Las vitroplantas establecidas sin contaminación en una caja petri se sacó las plántulas *in vitro* de papa y con la ayuda de un bisturí y pinzas esterilizadas se cortaron segmentos de tallo con yemas axilares (nudos), inmediatamente fueron sembradas los explantes en los recipientes con medio de cultivo sólido, y así sucesivamente han sido multiplicadas utilizando vasitos que albergaban siete explantes, en magentas con 25 plántulas *in vitro*. Finalmente se sellaron con plastifilm etiquetados (nombre del genotipo y fecha) y cultivados en sala de crecimiento. Las multiplicaciones se realizaron cada 3 a 4 semanas dependiendo del desarrollo de las plántulas (Figura 5), con un promedio de cuatro nudos por plántula *in vitro*, hasta alcanzar 300 vitroplantas por genotipo necesarias para proseguir la investigación. Este número de vitroplantas se llegó a obtener en aproximadamente 120 días (4 meses) a partir de la introducción de brotes.



**Figura 5. Multiplicación a partir de una vitroplanta cada 3 a 4 semanas (21-28 Días).**

### **3.3.2 Fase de Invernadero**

#### **3.3.2.1 Descripción del Invernadero**

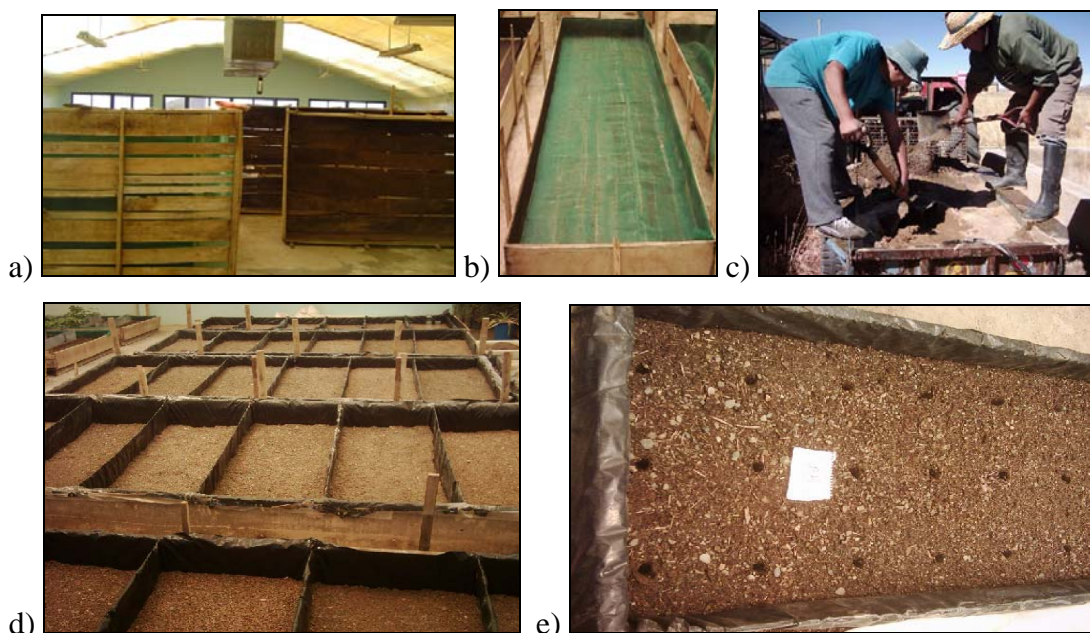
El invernadero tiene una superficie de 182 m<sup>2</sup> útil para la producción, modelo de doble agua con paredes laterales de igual altura 2,70 m, tiene dos paredes laterales donde se encuentra las ventanas ventiladores distribuidas equidistantemente, también tiene dos paredes frontales donde se encuentran ventanas y tres puertas de 1,40 x 2,10 m (de entrada, parte central y lateral izquierda); presenta en la parte central una altura de 4,50 m, las paredes construidas de ladrillo gambote, el piso de cemento, el techo está cubierto con calaminas plásticas y por debajo (parte interna) existe una capa de agrofilm de 250  $\mu$  que cubre el interior del invernadero. Las temperaturas fluctúan en promedio de 1,2°C como mínima y 39°C como máxima. Internamente instaladas 10 lámparas fluorescentes cada uno con dos tubos y un termómetro.

Para la producción de semilla pre-básica el interior del invernadero fue desinfectado y lavadas con detergente y lavandina al 2% (v/v).

#### **3.3.2.2 Preparación de las Camas de Producción**

Se adecuaron cinco camas de producción construidas de madera propias del instituto con una dimensión de 3,60 m de largo x 1,50 m de ancho, tendiendo una superficie útil por cama de 5,40 m<sup>2</sup> (Figura 6).

Para su uso fueron lavadas con detergente, lavandina al 2%; luego se procedió al forrado el interior de las camas de producción con mallas milimétricas de color verde y plástico negro (nylon) de 4 micrones dividida en 6 unidades experimentales cada cama. Posteriormente fue rellenado con los diferentes sustratos según los tratamientos sorteados al azar (Figura 6).



**Figura 6. a) y b) Desinfección y preparación de camas de producción, c) lavado de arena, d) sustratos hidropónicos establecidos en cada unidad experimental y e) hoyos (pequeños) para el trasplante.**

### 3.3.2.3 Preparación y Desinfección de Sustratos

Para la preparación de sustratos se utilizó los siguientes materiales:

- a) **Arena gruesa**, constituida por gravilla de 2 a 7 milímetros, recolectado del río aledaño al lugar, fue tamizado y lavado con agua.
- b) **Paja brava**, que fue picada a razón de 3 a 10 milímetros, también fue recolectado del lugar.
- c) **Cascarilla de arroz**, para su uso se tuvo que retostar en un 30% de requemado de su estado natural, adquirido de la localidad de Caranavi.
- d) **Aserrín**, se utilizó aserrín de madera el cual previamente a su uso fue fermentado por aproximadamente un mes y lavado con abundante agua; adquirido de barracas de la localidad de Viacha.



Una vez listo los materiales se procedieron a la mezcla de sustratos en las siguientes proporciones:

- Primer sustrato: 50% Arena + 50% Cascarilla de arroz
- Segundo sustrato: 50% Arena + 50% Aserrín
- Tercer sustrato: 50% Arena + 50% Paja brava picada

Después de la mezcla inmediatamente se realizó la desinfección de los sustratos con fungicida (Benomyl 20 g, Dithane 20 g, Rancol 50 g, Cobrethane 75 g, Ran-Caf 80 g; Indar 1,28 ml, Bravo 32 ml), insecticida (Curacron 25 ml) preparado y mezclado en 20 litros de agua, también se colocó formol al 40% y fostox (una pastilla para cada sustrato). La esterilización de estos sustratos húmedos fue en la fosa de cemento (4 x 2 x 2 m) por separado, se formaron capas de 10 cm de altura y en cada una de ellas se esparció el producto químico con una mochila fumigadora y luego se tapó con otra capa de sustrato y así sucesivamente. Luego para que el producto haga efecto se dejó por quince días cubriendo con plástico (nylon negro) para su buena desinfección y esterilización.

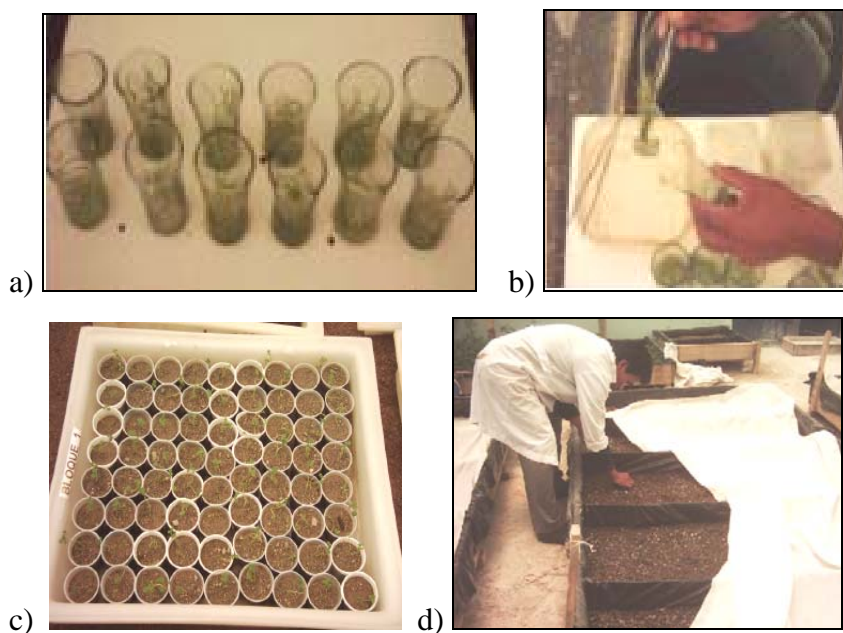
Una vez desinfectado el sustrato se llevó los diferentes sustratos hidropónicos a las camas de producción disponiendo de acuerdo a cada tratamiento, a una altura de 5 cm; para evitar la pérdida de humedad se regó periódicamente. Antes del trasplante una vez nivelado el sustrato se abrieron huecos con la ayuda de una estaca para facilitar el hoyo, en cada unidad experimental (Figura 6).

#### **3.3.2.4 Aclimatación de Vitroplantas**

Al término de los 120 días de micropropagación fueron aclimatadas las vitroplantas en vasitos de plástico con sustrato con un crecimiento promedio de 4,5 cm. Para ello se procedió a lavar las plántulas *in vitro* con agua destilada para quitarles todo el medio de cultivo con agar, posteriormente se sumergió por tres minutos las vitroplantas en Benomyl (fungicida), en una relación de 1 g l<sup>-1</sup>. Luego han sido cubiertas con una tela blanca para evitar quemaduras; esta fase duró aproximadamente tres semanas (Figura 7).

Al respecto Corzo *et al.* (2000), cuando la plántula *in vitro* tenga de cuatro a cinco nudos, se saca del tubo de ensayo con una pinza estéril o golpeando suavemente el tubo de ensayo contra la palma de la mano, para que el medio de cultivo desprenda y deje libre la plántula. El medio de *cultivo* adherido a las raíces se lava con agua.

El mismo autor menciona que las plántulas se ponen en hoyos de 3 a 4 cm de profundidad, en un sustrato húmedo, después de los cuales se hace presión ligera alrededor de la misma, para lograr un buen contacto con el sustrato. Inmediatamente después de la siembra es necesario proteger las plántulas de la deshidratación, cubriéndolas individualmente con frascos de vidrio o frascos plásticos, durante 8 a 10 días, tiempo en el cual las plántulas se adaptan a sus nuevas condiciones.



**Figura 7. a) Vitroplantas de papa en vasitos de vidrio, b) Operador realizando el lavado del medio de cultivo y aclimatación, c) Plántulas prendidas con hojitas pequeñas, d) Trasplante de plantitas prendidas en camas de producción.**

### 3.3.2.5 Trasplante de Plantines a Camas de Producción

Una vez asegurado el prendimiento y evaluadas las plantitas, se procedió el trasplante de vasitos a camas de producción en diferentes sustratos hidropónicos, trasplantando en los hoyos hechas con anticipación a una densidad de trasplante de 20 x 20 cm entre plantas,

teniendo en total 21 plantas por cada unidad experimental e inmediatamente fueron tapadas con nylon transparente un mes. Las unidades experimentales tenían un área útil de 90 cm<sup>2</sup> (Figura 7).

### **3.3.2.6 Preparación de la Solución Hidropónica y Dosis de Riego**

La preparación de la solución hidropónica se realizó según recomendación de la FAO (2003), modificado por (CIN-IBTEN), para ello se prepararon dos soluciones concentradas: A y B (Cuadro 2 del Anexo). De éstas soluciones dependiendo de la cantidad de sal nutritiva a preparar se tomaron diferentes alícuotas.

En la fase de aclimatación se realizó riegos con agua de pila sólo lo necesario hasta el prendimiento. En los dos primeros meses desde el trasplante del experimento hasta el primer aporque se aplicó una dosis de 67,5 ml de solución A, 27 ml de solución B preparado en 20 litros de agua de riego. La cual se regó cada 2 días a la semana (martes y viernes) con una dosis de 0,67 ml por unidad experimental (0,90 m<sup>2</sup>); y una tercera con agua de pila común para mantener la humedad. Desde el primer aporque (segundo mes) hasta el quinto mes se utilizó la siguiente dosis: 202,5 ml de solución “A”, 81 ml de solución “B” para preparar en 60 litros de agua de riego, la cual se distribuyeron a razón de 2 litros por unidad experimental (0,90 m<sup>2</sup>) manteniendo los días de aplicación.

El riego se realizó con ayuda de una regadera plástica de cinco litros por las mañanas. En los días calurosos se aplicó un riego adicional con agua de pila por las tardes, algunas veces se remojó el piso del invernadero para mantener la humedad.

La cantidad de solución nutritiva para todo el ciclo del cultivo de papa para los tres genotipos de papa nativa fue de 2000 litros. En el cuarto mes del cultivo se realizó una fertilización adicional por dos veces con fosfato diamónico (FDA) para ayudar la formación de tubérculos, la aplicación se realizó en forma líquida, 500 g (0,5 kg) preparada en 60 litros de agua de riego, regando 2 litros por unidad experimental, este riego se realizó a todas las unidades experimentales por igual. También se aplicó el fertilizante foliar (Nitro-Foska-Maduración) al quinto mes para la maduración de los tubérculos.

### 3.3.2.7 Labores Culturales

Las prácticas culturales realizadas durante el ciclo vegetativo de los tres genotipos de papa nativa fueron los siguientes:

- a) **Riego.** La principal labor de este experimento fue el riego con solución nutritiva cada dos días a la semana (martes y viernes) y una tercera con agua de pila para mantener la humedad.
- b) **Aporques o adición de sustrato hidropónico,** dependiendo del desarrollo y crecimiento de las plantas en función de los genotipos, se procede la primera adición de sustrato el primer y tercer mes después del trasplante, hasta el llenado de la cama. Salas (1995), indica que esta labor se realiza a medida que las plantas lo requieren. Su función primordial es darle mayor anclaje a la planta, proteger a los tubérculos de la radiación solar y evitar el ataque de patógenos.
- c) **Mallas soporte o redes (realizadas con lienzo),** cuando las plantas alcanzaban una altura de 20 centímetros, se instalaron las mallas soporte que son redes hechas de lienzo con cuadrículas de 10x10 centímetros, sujetadas por ocho listones de madera para evitar el tendimiento de las plántulas. A medida que las plantas se desarrollaban se fue suspendiendo la malla soporte.
- d) **Control fitosanitario,** se realizó control preventivo empleando fungicidas aplicando con una mochila fumigadora cada dos semanas contra problemas de plagas y enfermedades del sustrato y follaje. Salas (1995) indica que se realizan aplicaciones de fungicidas e insecticidas en forma preventiva según la dosis del fabricante.
- e) **Defoliación,** se realizó cuando las plantas llegaron a su madurez fisiológica después de trasplante, cortando todo el follaje verde amarillenta al ras del sustrato para ayudar la maduración de los tubérculos. Salas (1995), esta práctica consiste

en eliminar la parte aérea de la planta, para facilitar la cosecha y evitar el ataque tardío de plagas y enfermedades.

- f) **Cosecha y selección**, se realizó después de 7 días de la defoliación, cuando los tubérculos semilla de papa llegaron a su madurez fisiológica, al finalizar el quinto mes después del trasplante, con ayuda de una pala pequeña de jardín, de manera de no lastimar ningún tubérculo.

### 3.4 Diseño Experimental

El presente trabajo de investigación se evaluó en dos fases:

- a) **Fase de Laboratorio**, se efectuó un análisis Estadístico Descriptivo de las 20 vitroplantas elegidas al azar de los tres genotipos en estudio, cuantificando las variables por explante: Grado de enraizamiento, Número de nudos, Número de brotes, Número de hojas y Altura de vitroplantas.
- b) **Fase de Invernadero**, se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial con tres repeticiones por tratamiento evaluando 8 plantas por unidad experimental (Esteel y Torrie, 1996). La evaluación se efectuó cada cuatro semanas después del día de trasplante.

#### 3.4.1 Factores de Estudio

Se utilizó dos factores de estudio, que se presenta en el Cuadro 1.

**Cuadro 1. Factores de estudio para la producción de semilla pre-básica de papa nativa bajo el sistema hidropónico.**

<b>Factor A: Genotipos de papa</b>	<b>Factor B: Sustratos hidropónicos</b>
a1 = Pali blanca	b1 = 50% Arena + 50% Cascarilla de arroz
a2 = Sacampaya	b2 = 50% Arena + 50% Aserrín
a3 = Polonia	b3 = 50% Arena + 50% Paja brava

### 3.4.2 Tratamientos

El número total de tratamientos fueron nueve con 27 unidades experimentales. Los tratamientos se obtuvieron de la interacción de los dos factores A y B, de la siguiente forma (Cuadro 2):

**Cuadro 2. Descripción de los tratamientos combinados**

<b>Sigla</b>	<b>Descripción de los tratamientos</b>			
T1 = a1 b1	Pali blanca	x	50% Arena + 50%	Cascarilla de arroz
T2 = a1 b2	Pali blanca	x	50% Arena + 50%	Aserrín
T3 = a1 b3	Pali blanca	x	50% Arena + 50%	Paja brava
T4 = a2 b1	Sacampaya	x	50% Arena + 50%	Cascarilla de arroz
T5 = a2 b2	Sacampaya	x	50% Arena + 50%	Aserrín
T6 = a2 b3	Sacampaya	x	50% Arena + 50%	Paja brava
T7 = a3 b1	Polonia	x	50% Arena + 50%	Cascarilla de arroz
T8 = a3 b2	Polonia	x	50% Arena + 50%	Aserrín
T9 = a3 b3	Polonia	x	50% Arena + 50%	Paja brava

### 3.4.3 Modelo Aditivo Lineal

El modelo aditivo lineal estadístico según lo planteado por Steel y Torrie (1996) es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

**Donde:**

$Y_{ijk}$  = Una observación cualquiera

$\mu$  = media general

$\alpha_i$  = Efecto del i - ésimo genotipo de papa nativa

$\beta_j$  = Efecto del j - ésimo sustrato hidropónico

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Interacción del i-ésimo genotipo de papa con el j-ésimo sustrato.

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental

Para el análisis estadístico de los datos de laboratorio se utilizó el programa Minitab, SPSS 14 y para los datos de invernadero el programa SAS versión 6,12.

### 3.4.4 Análisis Estadístico

En función al modelo lineal del Diseño completamente al azar con arreglo bifactorial, se realizó el análisis de varianza correspondiente a las variables de estudio con un nivel de significancia del  $\alpha = 0,05$  o 5%. Donde las decisiones de significancia se tomaron según la siguiente regla:

Pr > 0,05	No presenta diferencias significativas (NS);	Se acepta hipótesis nula $H_0$
Pr < 0,05	Presenta diferencias significativas (*);	Se acepta hipótesis alterna $H_a$
Pr < 0,01	Presenta diferencias altamente significativas (**)	Se acepta hipótesis alterna $H_a$

Se realizó comparación de medias mediante la Prueba de Duncan, con una sensibilidad del 5%, para cada variable de respuesta.

### 3.5 Dimensiones de las Unidades Experimentales y Camas de Producción

- Distancia entre plantas:	0,20 m
- Total plantas por unidad experimental:	21 plantas
- Total plantas papa Pali Blanca:	189 plantas
- Total plantas papa Sacampaya:	189 plantas
- Total plantas papa Polonia:	189 plantas
<b>- Total plantas:</b>	<b>567 plantas</b>
- Total unidades experimentales:	27 unidades
- Longitud de la unidad experimental:	1,50 m
- Ancho de la unidad experimental:	0,60 m
<b>- Superficie de la unidad experimental:</b>	<b>0,90 m<sup>2</sup></b>
- Total camas de producción:	5 camas
- Longitud de una cama de producción:	3,60 m
- Ancho de una cama de producción:	1,50 m
- Superficie de cama de producción:	5.40 m <sup>2</sup>
<b>- Superficie total de producción:</b>	<b>24.30 m<sup>2</sup></b>
- Ancho del pasillo entre camas de producción:	0,25 m
- Largo del experimento:	8.50 m
- Ancho del experimento:	3,60 m
<b>- Superficie total del experimento:</b>	<b>30,60 m<sup>2</sup></b>



## 3.6 Variables de Respuesta

### 3.6.1 Fase de Laboratorio

Se efectuó la evaluación de 20 vitroplantas elegidas al azar de los tres genotipos de papa nativa en estudio, posterior a la primera multiplicación de las vitroplantas después de la introducción de brotes del tubérculo de Pali blanca, Sacampaya y Polonia, cuantificando las siguientes variables de respuesta por explante:

- a) **Altura de vitroplantas.** Esta variable fue evaluada con la ayuda de una regla tomando el dato desde el cuello de la planta *in vitro* hasta el ápice.
- b) **Número de nudos.** En este caso se contaron los nudos formados desde el cuello de la planta *in vitro*.
- c) **Número de brotes.** Para determinar esta variable se contaron los brotes generados a partir del explante.
- d) **Grado de enraizamiento.** Según Mendoza (2008), esta variable cualitativa fue cuantificada en términos de una escala donde: 0 – 3 = poco, 4 - 6 = medio y mayores o iguales a 7 = mucho; Se tomaron todas las vitroplantas enraizadas a simple observación con la vista.
- e) **Número de hojas.** Se contaron las hojas generados a partir del cuello por explante desarrollado.

### 3.6.2 Fase de Invernadero

La evaluación de los datos en esta fase de invernadero consistió en la determinación de las siguientes variables:

**a) Temperatura máxima, mínima dentro del invernadero.** Se tomó diariamente datos de temperatura dentro del invernadero. Se midió con un termómetro, ubicado en el centro del invernadero, estas mediciones se las realizaban diariamente durante la aclimatación y durante el desarrollo del cultivo hasta la cosecha. De esta manera se pudo detectar la época de bajas temperaturas dentro del invernadero. Esta medición se la realizó en la mañana a las 9:00 horas.

**b) pH del sustrato.** La medición de pH se realizó a un inicio de las muestras de los sustratos ya mezclados y al final en la cosecha de cada unidad experimental. Para ello se saturó con agua destilada en una relación de 50 g/ 200 ml (sustrato / agua destilada), luego de un día se filtró el agua de cada sustrato para medir el pH con pH-metro.

**c) Prendimiento.** Se realizó la cuantificación por conteo después de la fase de aclimatación, tomando como base toda la población de plántulas aclimatadas por tratamiento. Para la toma de datos se empleó la siguiente relación:

$$\% \text{ Supervivencia} = \text{Nro. de plantas vivas} / \text{Nro. de plantas totales}$$

**d) Altura de planta.** Este dato se ha evaluado desde la base del cuello del tallo a nivel del suelo hasta la parte apical de la planta. El registro de datos se realizó cada cuatro semanas después del trasplante durante el desarrollo de las plantas, se midió la altura de las 8 plantas por tratamiento que fueron tomadas al azar en el trasplante.

**e) Diámetro del tallo por planta.** Para este caso se tomaron los diámetros de los tallos por planta a una altura de 1 cm del nivel del sustrato utilizando un vernier. La evaluación se realizó en cada fase fenológica después del trasplante un tallo principal.

**f) Velocidad de crecimiento.** Ésta variable se calculó según la altura de la planta, es decir el promedio de la división de la altura de la planta sobre el número de días.

**g) Días a la floración.** Los días a la floración o inicio de la floración se determinaron, en función a cuantos días de la aclimatación aparecen las primeras flores en cada genotipo, y se contaron el número de plantas florecidas después del trasplante.

**h) Días a la cosecha.** Se contaron los días desde la aclimatación hasta la cosecha.

**i) Número de tubérculos por planta por tratamiento.** El número de tubérculos por planta se determinó de una muestra de 8 plantas por tratamiento, las mismas que fueron evaluadas desde el trasplante y que fueron escogidas al azar. De los cuales se contó el número de tubérculos por planta. Estos datos se registraron y fueron evaluados los resultados obtenidos en cada tratamiento.

**j) Peso de tubérculos por planta por tratamiento.** El peso de tubérculos por planta se determinó de una muestra de 8 plantas por tratamiento, se peso en una balanza desde el tubérculo más pequeño hasta el más grande, es decir, el total de los tubérculos por planta. Estos valores se registraron y fueron evaluados por cada tratamiento.

**k) Clasificación de tubérculos por categoría.** Se “clasificaron por categorías” en relación a su peso y tamaño; posteriormente a la clasificación, se procedió a pesar la cantidad total existente de tubérculo-semilla pre-básica en cada categoría. Para ello se consideró la categorización en base a peso determinado.

**Cuadro 3.** Clasificación de Tubérculos por categoría

<b>Categorías</b>	<b>Primera</b>	<b>Segunda</b>	<b>Tercera</b>	<b>Cuarta</b>	<b>Quinta</b>
<b>Peso (g)</b>	28,1 -70 g	18,1 - 28 g	8,1 - 18 g	4,1 - 8 g	1 - 4 g

**Fuente:** Centro de Investigaciones Nucleares (CIN, 2008)

**I) Número de yemas (ojos) por tubérculo y categoría.** Se contó el número de ojos de cada tubérculo de las 20 papas muestreadas al azar por categoría.

**II) Rendimiento total.** El rendimiento total se calculó en kg/m<sup>2</sup> por unidad experimental incluyendo en el cálculo, el peso de 21 plantas.

**m) Almacenamiento.** Después de la selección y clasificación de los tubérculos por categoría y tamaños, se procedió al almacenamiento de la papa en redecillas de modo que además tenga la semilla una ventilación adecuada. Posteriormente se realizó la inmersión de las semillas papa nativa pre-básica en ácido gibélico por espacio de 10 minutos para tener el inmediato brotación dentro de un mes desde la cosecha.

### 3.6.3 Análisis Económico

Para el análisis económico del presente trabajo se realizó un cuadro de costos de producción donde se presenta los costos variables, beneficios brutos, beneficios netos y un análisis de beneficio/costo para cada tratamiento.

**a) Costos variables (CV).** Se identificó los insumos que varían en cada tratamiento del ensayo. Se calcularon dichos costos por tratamiento. Los mismos fueron basados en precios de mercado. Teniendo estos valores, se procedió a sumas los totales.

**b) Beneficio bruto (Bb).** El beneficio bruto se calculó multiplicando el precio por el rendimiento obtenido de cada tratamiento, con la siguiente fórmula:

$$Bb = \text{Precio del producto (Bs/kg)} * \text{Rendimiento (kg/m}^2\text{)}$$

**c) Beneficio neto (Bn).** Este valor se obtiene restando el total de los costos variables del Beneficio bruto.

$$Bn = \text{Beneficio bruto (Bs/m}^2\text{)} - \text{Costo variable (Bs/m}^2\text{)}$$

**d) Beneficio/Costo (B/C).** Este valor se obtiene dividiendo el beneficio bruto con el total de los costos.

$$B/C = \text{Beneficio bruto (Bs/m}^2\text{)} / \text{Costo variable (Bs/m}^2\text{)}$$

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos obtenidos durante el trabajo de campo se clasificaron por dos etapas: fase de laboratorio e invernadero. A continuación se desarrolla las evaluaciones de laboratorio donde se tomaron en cuenta las variables: altura de vitroplantas, número de nudos, número de brotes, número de hojas y grado de enraizamiento.

Finalmente para la fase de invernadero se evaluaron los siguientes variables: temperatura máxima y mínima, acidez del sustrato, prendimiento, altura de planta, diámetro del tallo por planta, velocidad de crecimiento, días a la floración, días a la cosecha, número de tubérculos por planta por tratamiento, peso de tubérculos por planta por tratamiento, clasificación de tubérculos por categoría, número de yemas (ojos) por tubérculo y categoría, rendimiento total, almacenamiento y análisis económico.

### 4.1 Fase de Laboratorio

Las mediciones de la determinación del comportamiento morfológico *in vitro* de tres genotipos de papa se realizó en base a las variables de respuesta:

#### 4.1.1 Altura de Vitroplanta

En el Cuadro 4, se observa la estadística descriptiva para la variable altura de tres genotipos de vitroplantas de papas nativas en estudio.

**Cuadro 4. Altura de vitroplantas (cm) de las papas nativas:  
Pali Blanca, Polonia y Sacampaya.**

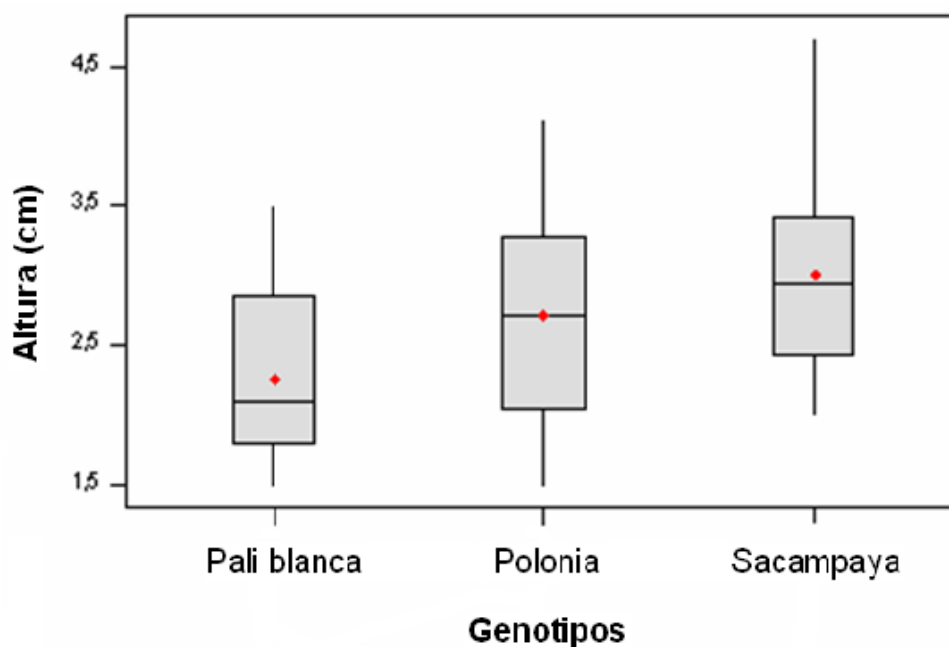
Genotipos	n	Media	Desvío estándar	Coefficiente de Variación (%)	Valor Mínimo	Valor Máximo	1er Quartil	Mediana	3er Quartil
Pali blanca	20	2,245	0,573	25,5	1,5	3,5	1,800	2,10	2,850
Polonia	20	2,705	0,710	26,2	1,5	4,1	2,050	2,70	3,275
Sacampaya	20	3,005	0,735	24,4	2	4,7	2,425	2,95	3,425

Tomando en cuenta el análisis estadístico descriptivo a los 28 días de desarrollo y crecimiento de las vitroplantas después de la primera multiplicación, en el Cuadro 4 se observa los promedios y muestran que existe una diferencia que nos indican que la mayoría de las vitroplantas de papas nativas tuvieron una altura alrededor de 2,2 cm Pali Blanca, 2,7 cm Polonia y 3,0 cm Sacampaya.

La mediana indica valores centrales de la distribución, es decir, que el 50% de las vitroplantas de papas nativas tuvieron alturas menores o iguales a 2,10 cm Pali blanca, 2,7 cm Polonia, 2,95 cm Sacampaya y el 50% restante tuvieron alturas mayores o iguales a los mismos resultados; por lo que, hace suponer que existe una influencia por valores extremos en la serie de datos. Se concluye que al menos un genotipo es diferente en altura de las vitroplantas de papa nativas. De las medias medidas la Sacampaya tiene mayor altura de vitroplanta.

En base al análisis de dispersión y la existencia de valores máximos de Pali Blanca (3,5 cm), Polonia (4,1 cm) y Sacampaya (4,7 cm), las cuales se presume crea la influencia sobre el valor de la media. Y claramente la desviación estándar muestra que las alturas de vitroplantas de papa nativa se alejan en promedio, en mas o menos (0,57 cm) Pali blanca, (0,71 cm) Polonia y (0,74 cm) Sacampaya de las medias aritméticas.

Finalmente el Coeficiente de variación de los tres genotipos de vitroplantas, los valores registrados son menores al 30% (Pali Blanca 25,5%, Polonia 26,2% y Sacampaya 24,4%), esto indica que los datos evaluados se encuentran dentro los parámetros de confianza, se tuvo un manejo adecuado en las medidas de las vitroplantas.



**Figura 8. Diagrama de cajas para la altura de vitroplantas de genotipos de papa nativa.**

En la Figura 8, las cajas (cuya altura de la caja representa la amplitud intercuartílica) muestran el grado de dispersión del 50% de las alturas centrales: se observa que las cajas del genotipo Polonia (2,1 a 3,2 cm) refleja una amplitud mayor que las cajas de las papas nativas Pali blanca (1,8 a 2,8 cm) y Sacampaya (2,4 a 3,4 cm). Es decir que el 50% central de las alturas de vitroplantas de Polonia presenta una mayor dispersión (variabilidad) que de los otros dos genotipos. Mientras de los genotipos Pali Blanca y Sacampaya no existe mucha diferencia en la variabilidad de los valores observando la altura de cada caja.

Las medianas observadas en las cajas nos informa la altura de vitroplantas de cada genotipo, que no son similares; la mediana de mayor magnitud en altura de vitroplantas corresponde a la Sacampaya (2,95 cm) y la de menor magnitud corresponde a la Pali Blanca (2,10 cm).

Por lo tanto las diferencias observadas pueden ser atribuidas tanto a la velocidad de regeneración de los genotipos como al medio de cultivo. Esta diferencia puede deberse a

la capacidad de división celular y regeneración, diferente en cada uno de los genotipos (Eyerbe, 1990 y López, 2001).

Algunos autores como Hartman (1997) y Jarret *et al.* (1980), indican que el crecimiento de las plantas depende de variedad y del medio de cultivo apropiado, por ejemplo el uso de giberelinas mejoran el alargamiento de las vitroplantas. En el medio de cultivo utilizado en la investigación, poseía ácido giberélico ( $GA_3$ ), es cual, posiblemente haya favorecido positivamente para el mejor comportamiento del genotipo Sacampaya y en menor grado para el genotipo Pali blanca.

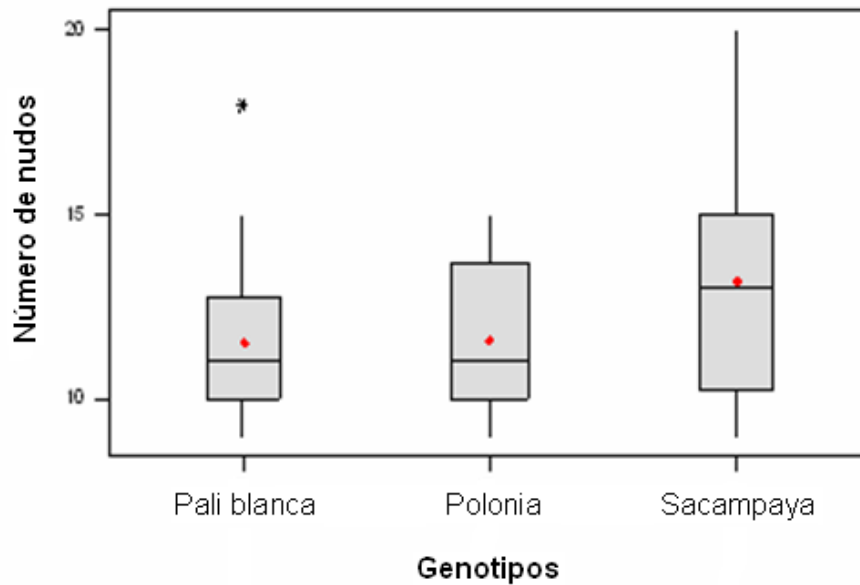
#### **4.1.2 Número de Nudos**

El número de nudos es una variable primordial en la fase de micropropagación, de ello depende el número de vitroplantas a obtenerse posteriormente. De acuerdo a la Estadística Descriptiva las medidas de tendencia central muestran que existe una diferencia en el número de nudos, entre los valores del promedio las vitroplantas de Pali Blanca tiene 11,55 y Polonia 11,60, respecto a la Sacampaya 13,15 nudos; y las medianas 11, 11 y 13 nudos, por lo que, hace suponer que existe una influencia por valores extremos en la serie de datos. De los promedios obtenidas la Sacampaya tiene mayor número de nudos.

En base a las medidas de dispersión y datos influyentes, la Figura 9, muestra la dispersión de los datos y la existencia de valores aberrantes (\*) y valores máximos de cada genotipo es 18 nudos de Pali Blanca, 15 de Polonia y 20 de Sacampaya, las cuales se presume crea la influencia sobre el valor de la media aritmética.

En cuanto al coeficiente de variación en todos los casos los valores registrados son menores al 30% (Pali Blanca 20,34%, Polonia 18,46% y Sacampaya 23,44%), estos datos se encuentran dentro los parámetros de confianza, que además indica un manejo adecuado de los datos.





**Figura 9. Diagrama de cajas para el Número de Nudos de vitroplantas de genotipos de papa nativa**

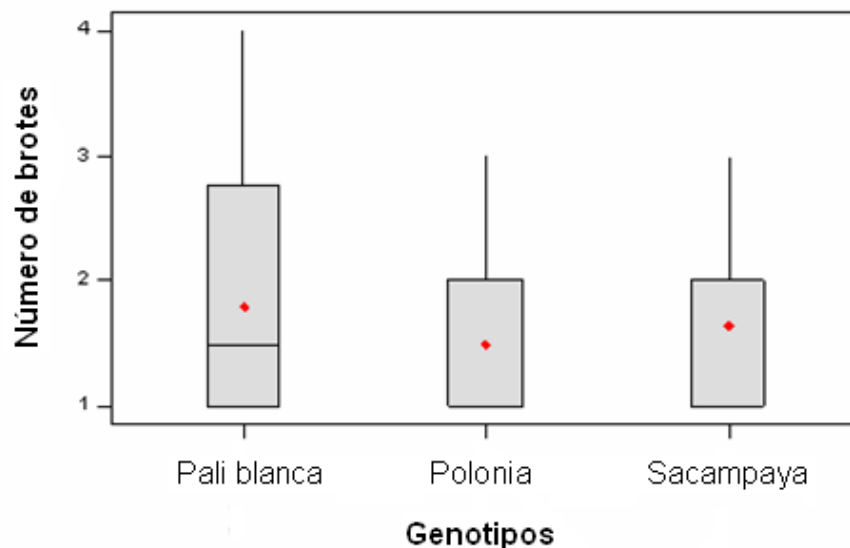
Se puede apreciar en la Figura 9, que la mediana de mayor número de nudos en las vitroplantas corresponde a la Sacampaya (13 nudos) y la de menor número corresponde a la Pali Blanca y Polonia (11 nudos); existe diferencia entre genotipos, dispersión de los valores de los tres vitroplantas de papa nativa (observando las cajas de los nudos).

Aunque en el genotipo Pali Blanca hay un aberrante con un valor encima de 15 nudos (identificado con \*) el cual se aleja de la tendencia del resto de los datos para esta vitroplanta, finalmente la Sacampaya es la de mayor dispersión de valores por la altura de la caja. Estas diferencias pueden atribuirse directamente a la carga genética de cada genotipo (Hurtado, 1994).

Según Salas (1995), los índices de multiplicación que se pueden alcanzar en papa tienen una progresión geométrica. De cada plántula *in vitro* se obtienen nudos para generar nuevas plántulas para una siguiente propagación. En condiciones de laboratorio, en un año, pueden llegar a producirse teóricamente gran cantidad de plántulas. De esta manera, se puede garantizar una provisión permanente y oportuna de plantas *in vitro* de óptima calidad sanitaria, según sean las necesidades.

### 4.1.3 Número de Brotes

Respecto al número de brotes en la Figura 10, se observa la Pali Blanca alcanzó un promedio de 1,8 brotes, de estos como valor mínimo formaron un brote y la máxima 4 brotes, entonces se puede indicar que la Pali blanca tuvo mayor número de brotes. Las vitroplantas de Polonia y Sacampaya como promedio 1,5 y 1,65 brotes, éstas tuvieron un brote como mínima y la máxima 3 brotes. Existe diferencia en el número de brotes debido a sus características genéticas de cada papa nativa.



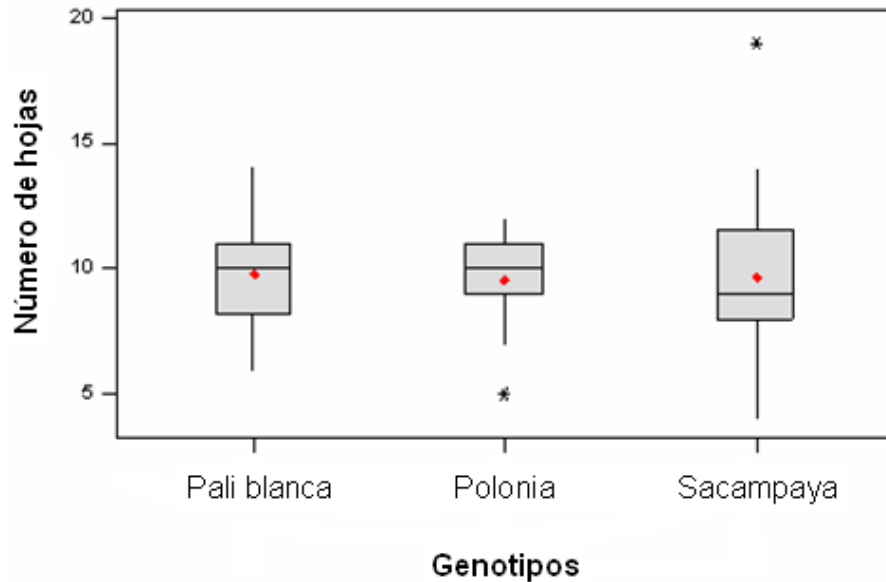
**Figura 10. Diagrama de cajas para el Número de Brotes de vitroplantas de genotipos de papa nativa**

Al respecto Hartman (1997), indica que el medio de cultivo puede influenciar respecto a la formación de brotes, considerando que en el medio de cultivo se adicionan auxinas, citoquininas y giberelinas.

### 4.1.4 Número de Hojas

En la Figura 11, se observa de manera general que existe diferencia en el número de hojas, una variabilidad de datos de los genotipos Pali Blanca, Polonia y Sacampaya (promedio: 9,8; 9,6 y 9,7 hojas) observando las cajas de las hojas. Aunque en el genotipo Polonia tiene un valor mínimo de 5 hojas y Sacampaya con un valor de 19 hojas como

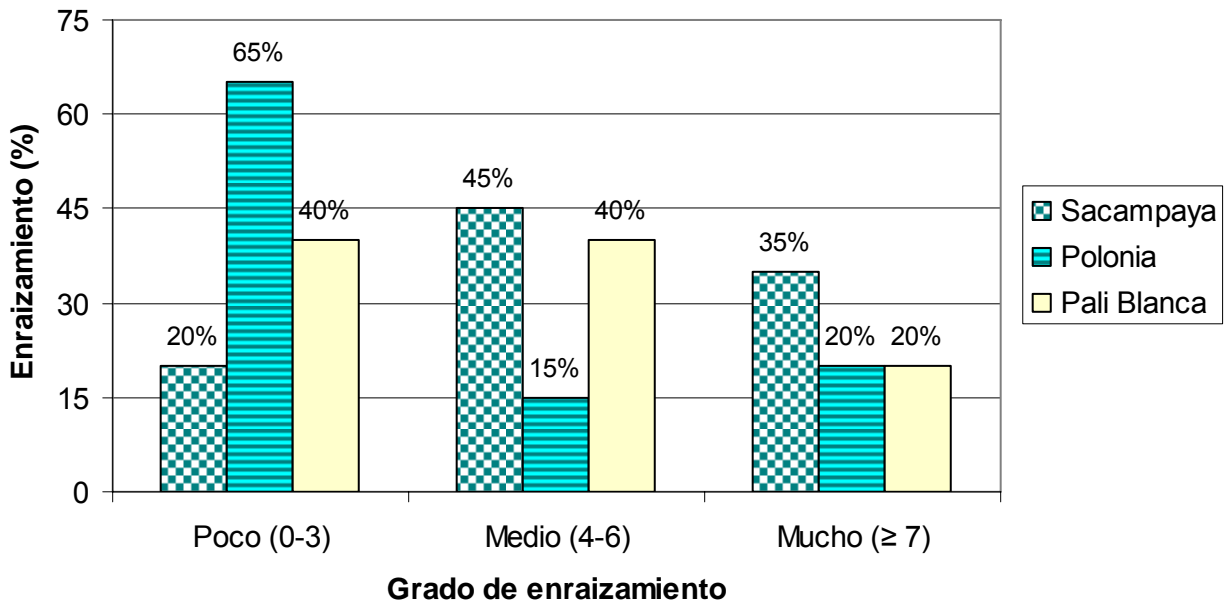
máximo (identificado con \*) el cual se aleja de la tendencia del resto de los datos para éstas vitroplantas. De las medias aritméticas obtenidas la Pali blanca tiene mayor número de hojas. Por lo tanto esta variable no es relevante en cuanto a los genotipos de papa lo cual puede estar por la carga genética.



**Figura 11. Diagrama de cajas para el Número de Hojas de los genotipos de papa nativa**

#### 4.1.5 Grado de Enraizamiento

En la Figura 12, se observa para la papa nativa Sacampaya nueve vitroplantas con un grado de enraizamiento de 4 a 6 raíces (Medio) que representan un 45% de las 20 vitroplantas muestreadas, mientras en la papa Polonia se registró un mayor porcentaje con 65%, es decir, 13 vitroplantas están con un grado de 0 a 3 raíces (Poco) del total de muestras observadas. Finalmente en papa Pali blanca existen 4 vitroplantas en grado mayor o igual a 7 raíces (Mucho) que representa un 20% del total de muestra. En este caso aparentemente el genotipo Pali Blanca demostró mayor afinidad al medio de cultivo frente al genotipo Sacampaya y Polonia. El porcentaje de enraizamiento está ligado directamente al genotipo y el medio de cultivo.



**Figura 12. Valores del Grado de enraizamiento de los tres genotipos de papa nativa: Sacampaya, Polonia y Pali blanca.**

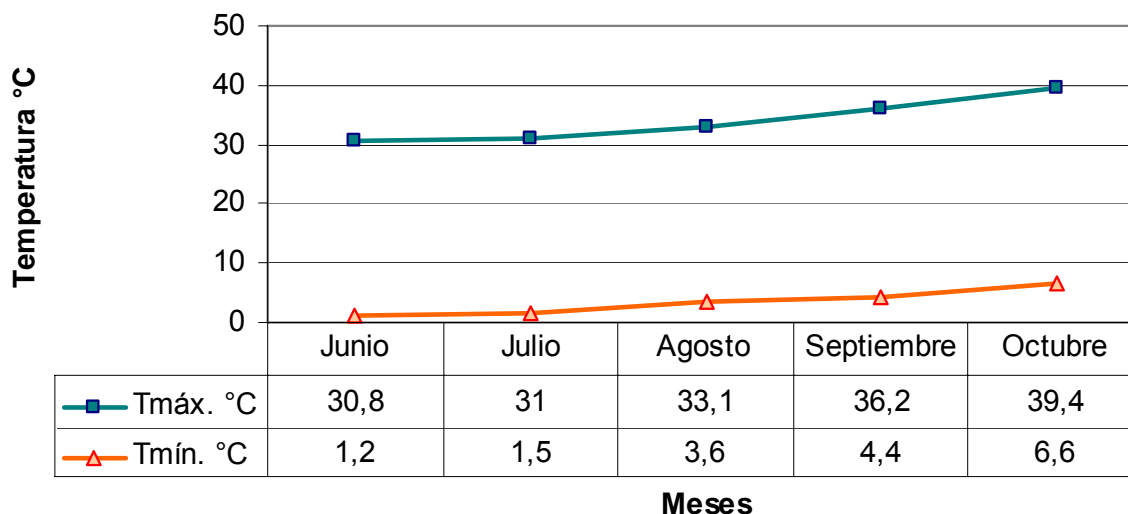
Al respecto Hartman (1997), por su parte indica que en muchas especies la reducción de la concentración de sales inorgánicas puede ser de importancia para el enraizamiento y ello está ligado al medio de cultivo. El uso de algunos reguladores de crecimiento puede favorecer la formación de raíces. Pero, en la presente investigación en el medio de cultivo no se adicionó ningún enraizador debido a que se tenía un buen comportamiento morfológico en el medio utilizado.

## 4.2 Fase de Invernadero

Con los resultados obtenidos en la etapa de invernadero se presenta el comportamiento agronómico de los tres genotipos de papa nativa de acuerdo a las variables de respuesta para su análisis y discusión.

### 4.2.1 Temperatura

En la Figura 13, se observa el comportamiento de la temperatura en el invernadero durante el ciclo vegetativo de las papas nativas en estudio.



**Figura 13. Comportamiento de la temperatura en el invernadero durante el ciclo vegetativo de la papa gestión 2008.**

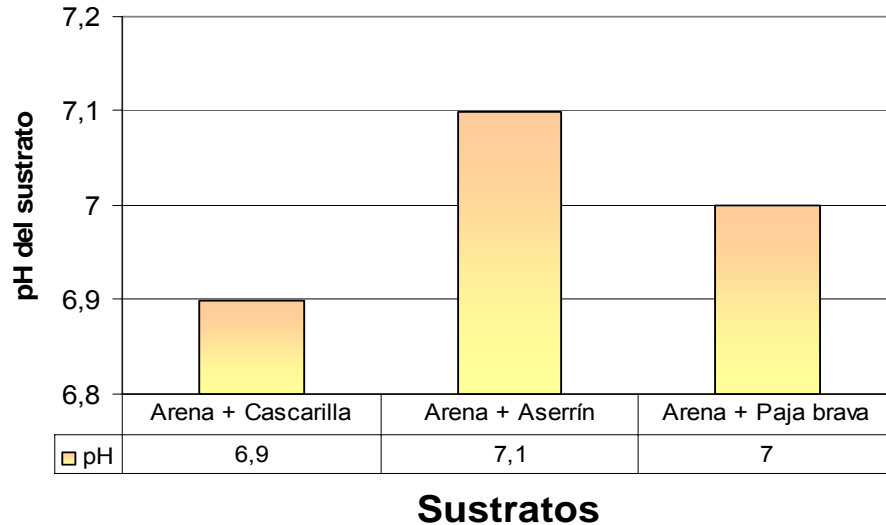
En la Figura 13 se muestra las temperaturas máximas y mínimas, en todo el ciclo vegetativo dentro el invernadero, donde la más baja se registró en junio con 1,2 °C, y la máxima en el mes de octubre con 39,4 °C. Al respecto Ledent (2000); citado por Frías (2005), las temperaturas en el interior y en el exterior de una estructura cubierta varían según los días y la temperatura ambiental.

Las plántulas que han sido trasplantadas al invernadero, necesitan una temperatura de 24°C, las temperaturas bajas afectan principalmente al cultivo de papa ya que los tubérculos quedan pequeños y sin desarrollar, por el contrario si la temperatura es elevada afecta a la formación de los tubérculos y favorece al desarrollo de plagas y enfermedades (Hurtado, 1996). Para Contreras (2002), días cortos y temperaturas bajas estimulan la iniciación de tubérculos.

Según TODOPAPA (2008), entre los factores que limitan la producción de papa, tales como temperatura, duración del día, intensidad de luz y condiciones físicas del sustrato, están los niveles de fertilización, los cuales son responsables en gran proporción de las variaciones en los rendimientos.

## 4.2.2 Acidez del Sustrato

En la Figura 14, se observa el pH del sustrato en el momento de la madurez fisiológica del ciclo de papas nativas en estudio.



**Figura 14. Acidez de los sustratos hidropónicos**

Los sustratos hidropónicos tienen un pH casi neutro (cercano a 7), lo que es favorable para el buen desarrollo de la planta.

Según TODOPAPA (2008), la papa requiere suelos bien aireados, drenados, profundos, con buen nivel de materia orgánica, porque es un cultivo moderadamente sensible a la salinidad y relativamente sensible al déficit de agua, especialmente durante el período de formación de estolones y el inicio de tuberización. Según Chilón (1997), el pH 7,1 es neutro, lo cual es óptimo para el desarrollo de la papa; según Guerrero (1996), el pH debe estar entre 5,2 a 6,5, esto es corroborado por Pardavé (2004) quién señala que el cultivo se desarrolla adecuadamente en suelos con un pH de 5 a 7. De esa manera Guerrero (1996), confirma que el pH registrado en el análisis de sustrato favoreció una buena asimilación de los nutrientes, especialmente los micro nutrientes.

### 4.2.3 Prendimiento de Vitroplantas de Papas Nativas a Sustratos Artificiales

En el Cuadro 5, al realizar análisis de varianza en cuanto al genotipo y sustrato no fueron significativos, lo que quiere decir que cada tratamiento tuvo un prendimiento uniforme durante aclimatación. Sin embargo la interacción genotipo por sustrato no fue significativa lo cual indica que cada factor tuvo un efecto independiente en los resultados obtenidos.

**Cuadro 5. Análisis de varianza del Prendimiento de Vitroplantas de Papas Nativas a Sustratos Artificiales**

Fuentes de variación	Porcentaje de prendimiento		
	C.M.	Fc	P
Genotipo	69,02	0,49	0,4951 NS
Sustrato	43,99	0,31	0,8159 NS
G x S	20,38	0,14	0,9312 NS
Error	140,64		
TOTAL			CV = 13,92%

C.M. = Cuadrado medio; Fc= F calculado; P=Probabilidad (Ft= 5%); \* = Significativo; NS = no significativo.

La prueba de Duncan al 5% de nivel de significancia no encontró diferencias significativas en el porcentaje de prendimiento de los tres genotipos de vitroplantas de papa nativa Pali blanca (99,4%), Polonia (99,4%) y Sacampaya (89,6%). En cuanto al sustrato: arena+cascarilla (99,6%), arena+aserrín (89,6%) y arena+paja brava (99,3%).

Esto posiblemente se debe a que las plántulas *in vitro* de papa nativa tuvieron un buen desarrollo en laboratorio y buenas características fenotípicas (buen enraizamiento, altura, diámetro de tallo y desarrollo de yemas axilares). Así también se le puede atribuir a un buen manejo y manipuleo de las vitroplantas en el proceso de la fase de aclimatación.

Según Hurtado (1994), las plántulas deben tener de dos a tres nudos y un sistema radicular desarrollado para poder ser trasplantados en el sustrato. Al respecto Hartman (1997), indica que en la aclimatación la planta puede estar enraizada o no, para luego volverse autótrofa (tienen que desarrollar raíces, brotes funcionales y aumentar su resistencia a la desecación y al ataque de organismos patógenos). En el caso de plántulas utilizadas en este experimento cumplían las recomendaciones de estos autores.

#### 4.2.4 Altura de Planta

En el Cuadro 6, se observa el análisis de varianza, en la altura de planta, existen diferencias significativas entre los genotipos de papa nativa al igual que en los sustratos, por lo que se realizó una comparación de medias para ver la significancia entre ellos. Mientras la interacción genotipo por sustrato no fue significativo lo cual indica que cada factor tuvo un efecto independiente en los resultados obtenidos en la altura de planta.

En cuanto al coeficiente de variación, se registró valores menores al 30%, según Calzada (1985) el rango aceptable se encuentra entre 0 a 30%. Lo cual indica un adecuado manejo de los datos y estos se puede utilizar para la evaluación estadística.

**Cuadro 6. Análisis de varianza para la altura de las planta y diámetro de tallo en la fase de madurez fisiológica de los genotipos de papa nativa**

Fuentes de variación	Altura de planta			Diámetro de tallo		
	C.M.	Fc	P	C.M.	Fc	P
Genotipo	1627,6	8,09	0,0049 *	14,5	4,96	0,0268 *
Sustrato	14627,96	72,67	0,0001 *	175,92	60,21	0,0001 *
G x S	83,47	0,41	0,7426 NS	1,33	0,45	0,7148 NS
Error	201,28			201,28		
TOTAL		CV = 17,06%			CV = 25,45%	

C.M. = Cuadrado medio; Fc= F calculado; P=Probabilidad (Ft= 5%); \* = Significativo; NS = no significativo.

Alvarado (1986), indica que la altura de la planta es una característica variable según el hábito de crecimiento que tenga cada variedad; además, se considera que el crecimiento de la planta es ascendente hasta que la planta alcanza la floración.

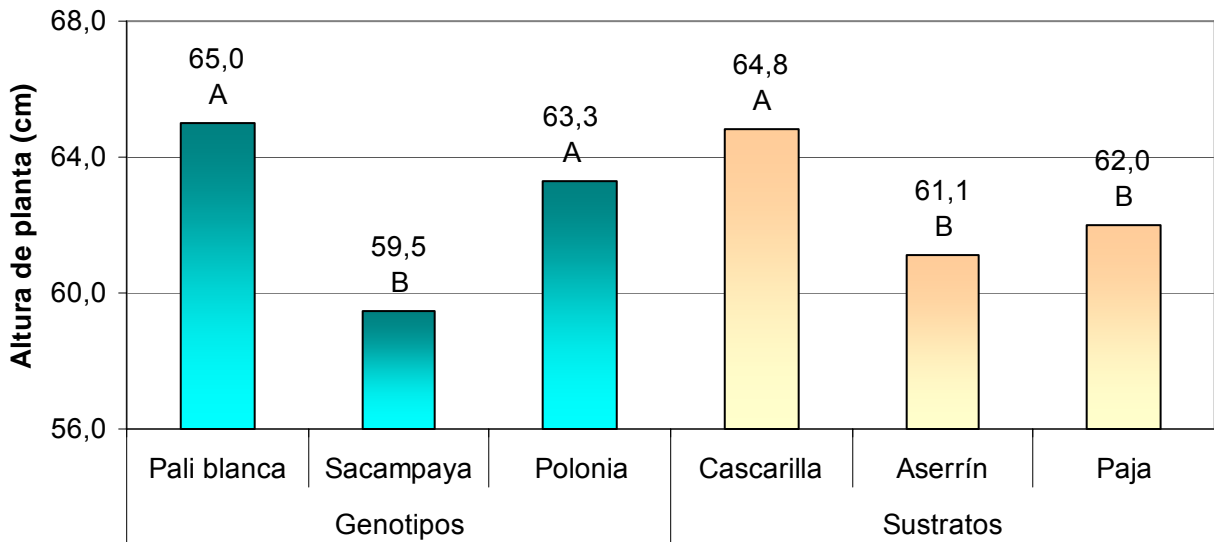
En la Figura 15 se observa que existen diferencias significativas en la altura de planta de los genotipos Pali blanca (65,0 cm) frente a la Sacampaya (59,5 cm) y Polonia (63,3 cm), esto bajo una prueba de comparación de medias Duncan a un nivel de 5%. Pero, el genotipo Pali blanca tiene mayor altura a comparación del genotipo Polonia y Sacampaya, posiblemente esto debe a la genética de cada papa nativa y la respuesta fisiológica en invernadero. Al respecto, Antezana (1992); citado por Bertsch (1995), indica que la respuesta genética particular de cada una de ellas, los productos fotosintéticos se



distribuyen de una manera particular en cada planta, generando una expresión de la altura de planta característica de cada papa nativa.

Blackman mencionado por Bertsch (1995), indica que un proceso (en este caso la altura) es condicionado en su expresión por un número determinado de factores separados (luz, agua, dióxido de carbono, oxígeno, temperatura y nutrimentos), el resultado del proceso está limitado por el factor disponible al más bajo nivel. En otras palabras, el crecimiento de la planta no puede ser mayor que el permitido por el factor disponible en menor cantidad.

De acuerdo al resultado del laboratorio, el genotipo Sacampaya tuvo un mejor desarrollo en la altura, en micropropagación *in vitro* a comparación del genotipo Pali Blanca.

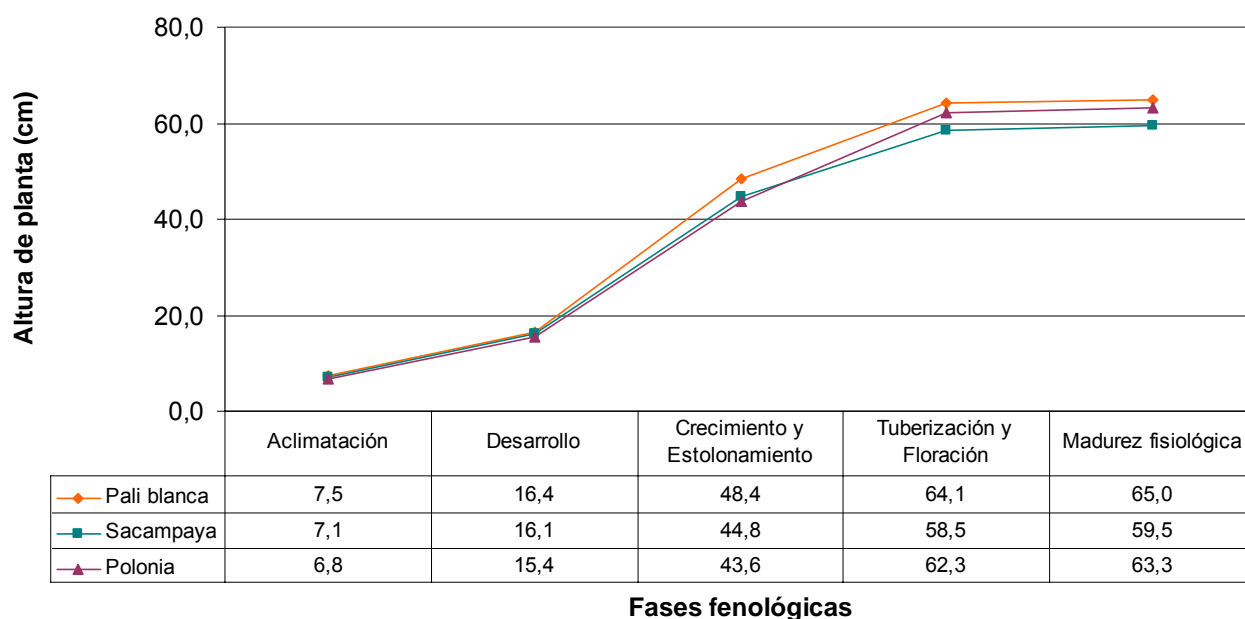


**Figura 15. Efecto de los sustratos en la altura de planta de los genotipos de papa durante la fase madurez fisiológica. Comparación de medias Duncan (5%).**

En cuanto a los sustratos la prueba de Duncan (5%) en la Figura 15, se observa estadísticamente diferentes en la altura de planta: arena+cascarilla de arroz (64,8 cm), arena+aserrín (61,1 cm) y arena+paja brava (62,0 cm). Donde el sustrato cascarilla de arroz tuvo una mayor altura y contrariamente el sustrato aserrín tuvo menor altura de planta. Esto puede ser debido a que algunas maderas presentan sustancias tóxicas para la planta, principalmente dañinos, como indica FAO (2003), lo cual no permitió un buen crecimiento de la planta de papa, además de ello tiene un porcentaje de compactación

frente al sustrato arena+cascarilla de arroz y paja brava. Este comportamiento de las plantas en estos sustratos se atribuye a las características físicas.

Al respecto Antezana (2001), indica que el exceso de humedad y la disponibilidad de nutrientes en el sustrato pueden influir en el desarrollo y crecimiento de las plantas. En la investigación la paja brava tiene mayor porcentaje de capacidad de retención de humedad por lo tanto la solución nutritiva y ello favoreció una absorción mas adecuada de los nutrientes por planta (es decir, es el intermedio entre el sustrato arena+cascarilla de arroz y aserrín). Mientras la cascarilla de arroz tiene menor porcentaje de retención de humedad y mejor porosidad, por ello facilitó la mayor altura y la mejor absorción de nutrientes (Narro, 1994).



**Figura 16. Altura de planta durante las fases fenológicas del cultivo de papa nativa.**

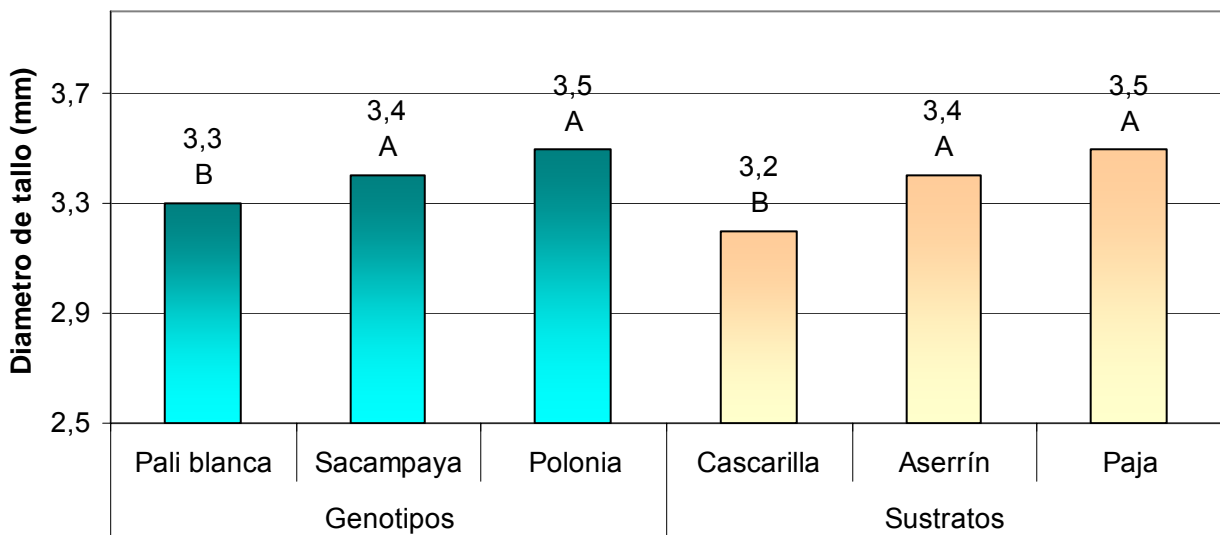
En la Figura 16, se observa que el genotipo Pali blanca tuvo un mejor desarrollo en altura de planta hasta la fase de madurez fisiológica, llegando a una altura promedio de 65,0 cm, contrariamente con el genotipo Sacampaya llegó a una altura promedio de 59,5 cm.

En cuanto a las fases fenológicas se observa que la planta va ganando altura en forma lineal a medida que pasa cada fase, llegando casi a mantenerse en la fase de tuberización y floración (87 días) hasta la madures fisiológica (115 días).

#### 4.2.5 Diámetro del Tallo por Planta

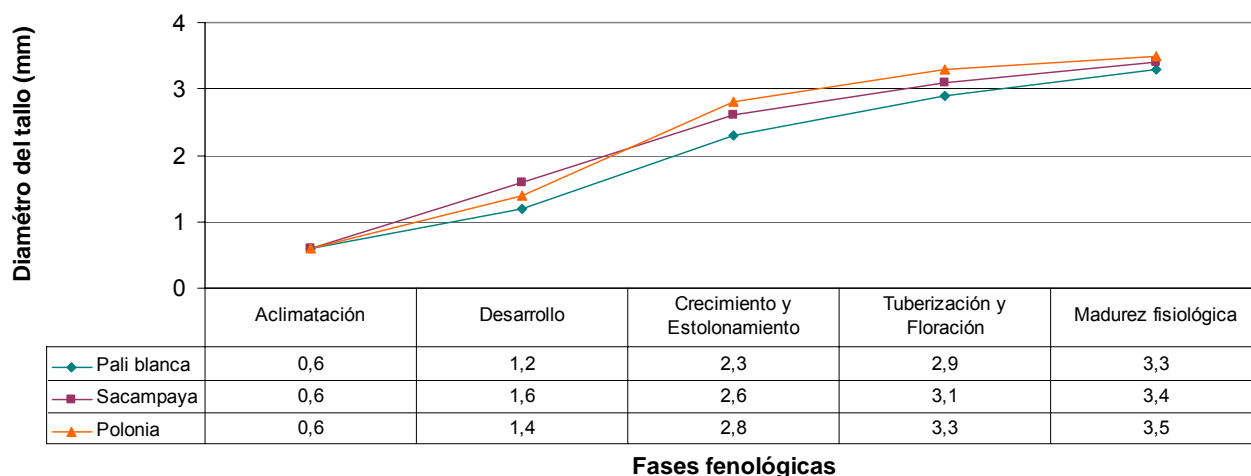
En el Cuadro 6, se observa el análisis de varianza, en el diámetro de tallo existen diferencias significativas entre los genotipos de papa nativa al igual que en los sustratos, por lo que se realizó una comparación de medias para ver la significancia entre ellos. Mientras la interacción genotipo por sustrato no fue significativo lo cual indica que cada factor tuvo un efecto independiente en los resultados obtenidos en el diámetro del tallo.

En la Figura 17, se observa que en el diámetro del tallo según la prueba de Duncan al 5% los genotipos presentan significancia: Pali blanca (3,3 mm), Sacampaya (3,4 mm) y Polonia (3,5 mm). Donde la Polonia tuvo mayor diámetro, esto posiblemente a la carga genética y la fisiología propia de cada genotipo nativa.



**Figura 17. Efecto de los sustratos en el diámetro del tallo de los genotipos de papa, durante la madurez fisiológica. Comparación de medias, Duncan (5%).**

Respecto a los sustratos la prueba de Duncan (5%) estadísticamente que hay diferencia en el diámetro de la planta: arena+cascarilla de arroz (3,2 mm), arena+aserrín (3,4 mm) y arena+paja brava (3,5 mm). Donde el sustrato paja brava tuvo un mayor diámetro, al mismo tiempo más robusta y contrariamente el sustrato cascarilla de arroz tuvo menor diámetro de tallo en la planta.



**Figura 18. Diámetro del tallo durante las fases fenológicas del cultivo de papa nativa**

En la Figura 18, se observa que el genotipo Polonia tuvo un crecimiento mayor en el diámetro durante la fase madurez fisiológica, llegando a 3,5 mm de diámetro del tallo, contrariamente a Pali blanca que llegó a 3,3 mm de diámetro.

Según Wiersema (1987), una planta de papa comúnmente tiene varios tallos, cada tallo forma raíces, estolones y tubérculos y se comporta como si fuera una planta individual. Al respecto Contreras (2002) indica que, el crecimiento de los tallos es un 75% del crecimiento de las hojas. En forma similar, esta función puede ser afectada indirectamente por los mismos factores que afectan el desarrollo del follaje en la planta.

#### **4.2.6 Velocidad de Crecimiento**

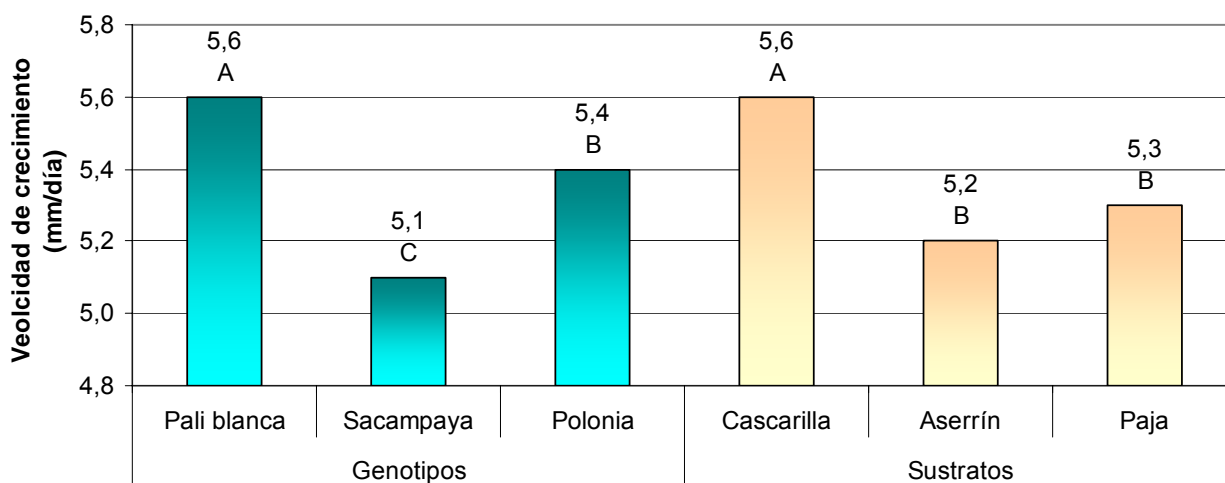
En el Cuadro 7, al realizar análisis de varianza existen diferencias significativas entre genotipos al igual que los sustratos en función a la velocidad de crecimiento diario, por lo que se realizó una comparación de medias. Sin embargo la interacción genotipo por sustrato no fue significativa lo cual indica que cada factor tuvo un efecto independiente en los resultados obtenidos, esto pudo deberse por la entrada de luz al interior del invernadero.

**Cuadro 7. Análisis de varianza para la velocidad de crecimiento**

Fuentes de variación	Velocidad de crecimiento		
	C.M.	Fc	P
Genotipo	0,28	4,31	0,0449 *
Sustrato	5,04	77,1	0,0001 *
G x S	0,03	0,48	0,6981 NS
Error	0,07		
TOTAL			CV = 7,63%

C.M. = Cuadrado medio; Fc= F calculado; P=Probabilidad (Ft= 5%); \* = Significativo; NS = no significativo.

A continuación se presenta la comparación de medias para la velocidad de crecimiento:



**Figura 19. Efecto de los sustratos en la velocidad de crecimiento por día de los genotipos de papa durante la fase de madurez fisiológica. Duncan (5%).**

En la Figura 19, según la prueba de Duncan (5%) se observa que existen diferencias significativas en la velocidad de crecimiento de los genotipos de papa Pali blanca (5,6 mm/día), Sacampaya (5,1 mm/día) y Polonia (5,4 mm/día). Es decir, que el genotipo Pali blanca tiene mayor velocidad de crecimiento que el genotipo Sacampaya, esto posiblemente a la carga genética y la respuesta fisiológica que posee cada uno de ellos.

En cuanto a los sustratos la prueba de Duncan (5%) se observan tres grupos estadísticamente diferentes, la mezcla arena+cascarilla de arroz (5,6 mm/día), arena+aserrín (5,2 mm/día) y arena+paja brava (5,3 mm/día). Donde el sustrato arena+cascarilla de arroz tuvo una mayor velocidad de crecimiento y contrariamente el

sustrato arena+aserrín tuvo menor velocidad de crecimiento. Esto puede ser debido a que el aserrín presenta sustancias tóxicas para la planta, lo cual no permitió un buen desarrollo de la planta de papa nativa como indica FAO, (2003). Sin embargo el sustrato arena+cascarilla posiblemente favoreció la velocidad de crecimiento por su mejor textura y porosidad.

#### **4.2.7 Días a la Floración**

La floración de los genotipos estudiados no pudo ser evaluada debido a que en las tres papas nativas la floración fue poco significativa. Las flores blancas del genotipo Sacampaya apareció a los 87 días desde la aclimatación de la plántulas *in vitro*, en una sola unidad experimental en el sustrato arena+paja brava con un 8%, en la tercera cama de producción. En papa nativa Polonia y Pali blanca aparecieron después de una semana, es decir, a los 97 días desde la aclimatación, pero la floración eran muy poca en cada unidad experimental, aunque en cada una de las unidades experimentales y camas de producción hubo un 15% floreciendo en forma escalonada (Cuadro 6 del Anexo).

En cuanto a los genotipos las primeras flores que aparecieron fueron del genotipo Sacampaya y después de una semana floreció el genotipo Pali blanca y Polonia.

#### **4.2.8 Días a la Cosecha**

Cuando las plantas llegaron a la madurez fisiológica, es decir cuando el follaje se volvió verde amarillento, entonces a los 154 días se procedió a cortar el follaje; y a los 160 días del trasplante se cosechó (Cuadro 6 del Anexo).

#### **4.2.9 Número de Tubérculos por Planta**

En el Cuadro 8 se observa que no hay diferencia significativa en el número de tubérculos por planta, tuvo un efecto independiente en los resultados; y existen diferencias estadísticamente significativas entre genotipos en las variables peso de los tubérculos por planta, rendimiento. En cuanto a los sustratos en función a las variables número de

tubérculos por planta, peso de los tubérculos por planta y rendimiento, presentan diferencias significativas por lo que se realizó una comparación de medias.

Sin embargo la interacción genotipo por sustrato no fue significativa lo que indica que estas tres variables son independientes en el número de tubérculos por planta, peso de los tubérculos por planta y rendimiento.

**Cuadro 8. Análisis de varianza de las variables: Número de tubérculos por planta, peso de los tubérculos por planta y rendimiento total (kg/m<sup>2</sup>).**

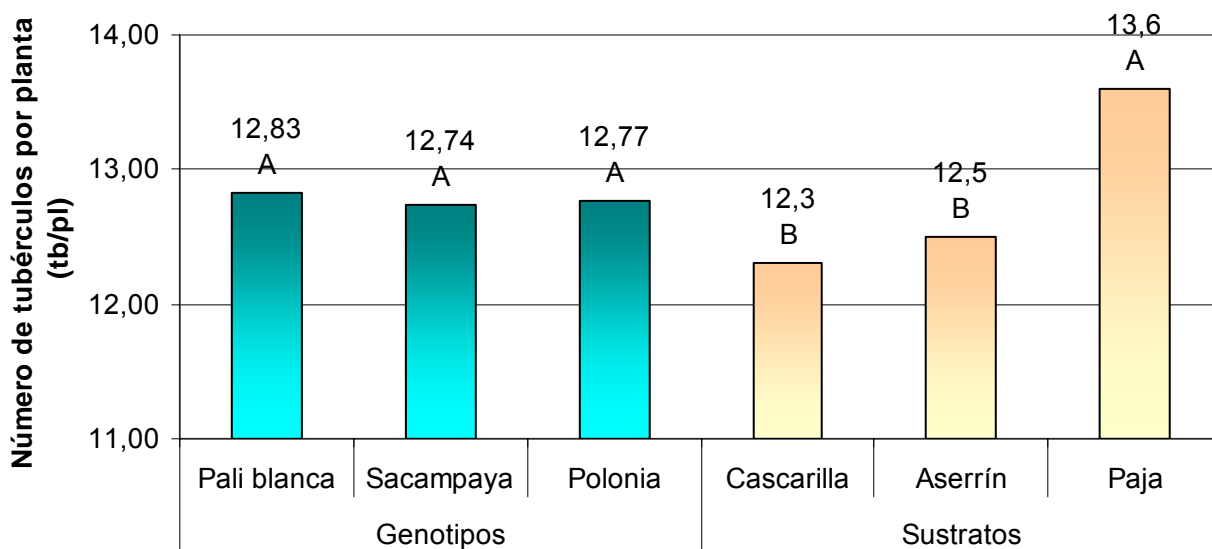
Fuentes de variación	Número de tubérculos por planta			Peso de los tubérculos por planta			Rendimiento total (kg/m <sup>2</sup> )		
	C.M.	Fc	P	C.M.	Fc	P	C.M.	Fc	P
Genotipo	0,41	1,06	0,3046 NS	0,1	0,77	0,0415 *	0,000301	2,41	0,0431 *
Sustrato	3,54	1,23	0,0001 *	2,84	20,86	0,0001 *	0,248142	1984,48	0,0001 *
G x S	0,81	2,11	0,1036 NS	0,32	2,33	0,0754 NS	0,347865	2782	0,086 NS
Error	0,38			0,14			0,000125		
TOTAL		CV = 20,87%			CV = 20,67%			CV = 1,74%	

C.M. = Cuadrado medio; Fc= F calculado; P=Probabilidad (Ft= 5%); \* = Significativo; NS = no significativo.

En la Figura 20, se observa que no existen diferencias significativas de acuerdo a la Prueba de Duncan (5%) en el número de tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa Pali blanca (12,83 tubérculos por planta), Sacampaya (12,74 tubérculos por planta) y Polonia (12,77 tubérculos por planta). Esto posiblemente debido a la carga genética y la respuesta fisiológica que posee cada uno de ellos.

En cuanto al sustrato, la prueba de Duncan (5%) los agrupa en tres: el primer sustrato compuesto por arena+cascarilla de arroz (12,3 tubérculos/planta), el segundo por arena+aserrín (12,5 tubérculos/planta) y el tercer sustrato arena+paja brava (13,6 tubérculos/planta). Observando las medias, el sustrato arena+paja brava tuvo un mayor número de tubérculos y contrariamente el sustrato arena+cascarilla un menor número.

El número de tubérculos por planta es muy importante tomarlos en cuenta en el rendimiento ya que de ello depende la cantidad de semilla a obtener a partir de un vitroplanta para la próxima generación.



**Figura 20. Efecto de los sustratos en el número de tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa a los 160 días después de la aclimatación, Duncan (5%).**

Coca (2000), señala que en promedio se encuentran entre 16 a 30 tubérculos por planta en condiciones del altiplano. Si esta observación se toma como parámetro de comparación, no superaron el valor mínimo (16 tubérculos) en la investigación.

Según Peña (1999), respecto a número de tubérculos, menciona que cuando: hay menor competencia entre los tallos cuando hay menor densidad de tallos. En este caso se obtiene un número grande de tubérculos por tallo, pero se disminuye el número de tubérculos por unidad de área. Cuando aumenta la densidad de tallos disminuye el número de tubérculos por tallo, pero aumenta, generalmente el número de tubérculos por unidad de área. Número de tubérculos por  $m^2$ , está influenciado por dos factores: el número de tallos principales /  $m^2$  y el número de tubérculos por tallo.

Al respecto Canahua (1991), indica que la fase de formación de estolones, es susceptible a la escasez de agua, su déficit ocasiona un número reducido de estolones que posteriormente se traduce en un menor número de tubérculos disminuyendo así el rendimiento. Por su parte Hernández (2001), señala el incremento de raíces y estolones está acondicionado por la humedad del suelo y la disponibilidad de nutrientes.

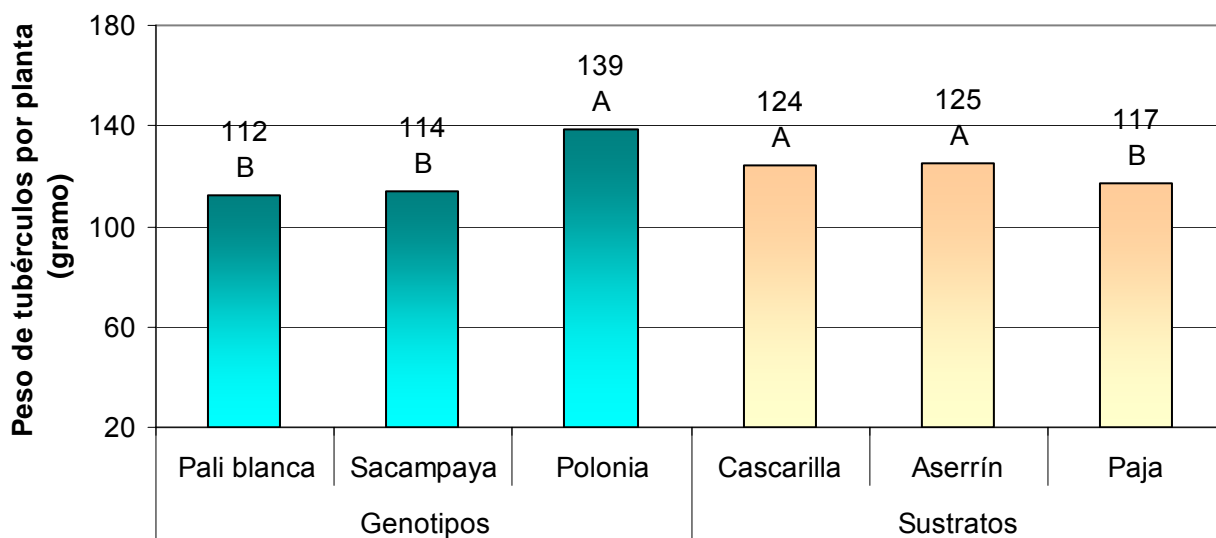


Al respecto Foronda (1999), indica que debido al nitrógeno se genera gran cantidad de masa foliar y con ello grandes superficies de asimilación que a su vez constituye un requisito indispensable para la producción de almidones y en consecuencia desarrollo de los tubérculos.

#### 4.2.10 Peso de los Tubérculos por Planta

En el Cuadro 8 se observa en el análisis de varianza que existe diferencia significativa entre genotipos en el variable peso de los tubérculos por planta, en cuanto a los sustratos también presentan diferencias significativas por lo que se realizó una comparación de medias.

En la Figura 21, se observa que existen diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan (5%) en el peso de tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa Pali blanca (112 gramos/planta), Sacampaya (114 gramos/planta) y Polonia (139 gramos/planta). La Polonia tiene mayor peso de tubérculos por planta, debido a que los tubérculos son más grandes (mayor tamaño) que la Pali blanca y Sacampaya. Esto posiblemente debido a la carga genética y la respuesta fisiológica.



**Figura 21. Efecto de los sustratos en el peso de los tubérculos por planta de los genotipos de papa nativa a los 160 días después de la aclimatación. Duncan (5%)**

En cuanto al sustrato la prueba de Duncan (5%) agrupa en tres: el primer sustrato compuesto por arena+cascarilla de arroz (124 gramos/planta), el segundo por arena+aserrín (125 gramos/planta) y el tercer sustrato arena+paja brava (117 gramos/planta). Donde el sustrato arena+aserrín tuvo un mayor peso de tubérculos por planta y contrariamente el sustrato arena+paja brava un menor peso.

El peso de tubérculos sea posiblemente a la aplicación suplementaria de fosfato diamónico (FDA), fertilizante foliar (Nitro-Foska-Maduración) y solución hidropónica a todos los tratamientos (sustratos) en la misma cantidad, los cuales ayudaron al desarrollo de los tubérculos, por la presencia de fósforo en su composición (Cortés, 1981) (Cuadro 6 del anexo).

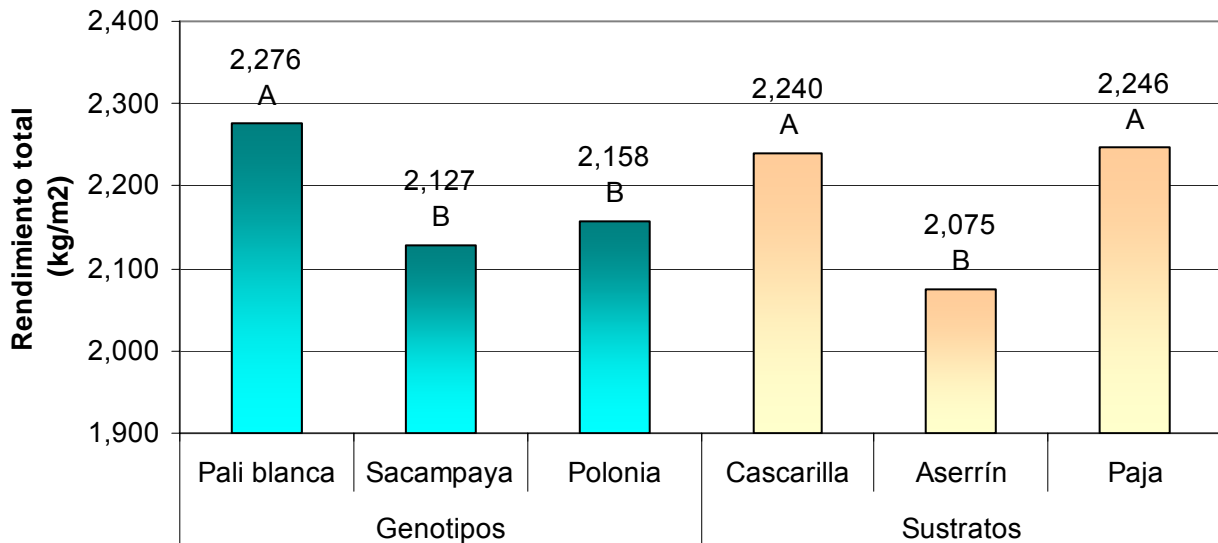
El fosfato diámonico,  $((\text{NH}_4)_2\text{PO}_4)$  según Garman (1992), se presenta en forma perlada y tiene una riqueza del 18 % en nitrógeno y 46 % en anhídrido fosfórico ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). Este fertilizante tiene la ventaja de ser soluble en agua por tanto es rápidamente disponible para la planta (López y Espinoza, 1995).

En esta investigación en la fase de tuberización no se aplicó nitrato de potasio, el principal elemento responsable de la movilización del almidón desde las hojas hacia el tubérculo es el potasio, de tal forma que un alto contenido de este nutriente es decisivo para la obtención de un alto rendimiento y calidad (TODOPAPA, 2008). El mismo menciona que la papa es un cultivo altamente demandante de potasio cuya fase crítica de absorción es muy breve, por lo tanto la disponibilidad de este nutriente en el sustrato hidropónico debe contar con el apoyo de la fertilización (Cuadro 6 del Anexo).

#### **4.2.11 Rendimiento Total**

En el Cuadro 8 se observa en el análisis de varianza que existe diferencia significativa entre genotipos en el variable rendimiento, en cuanto a los sustratos también presentan diferencias significativas por lo que se realizó una comparación de medias.

En la Figura 22, según la prueba de Duncan (5%) se observa diferencias significativas en el rendimiento total de los genotipos de papa Pali blanca (2,276 kg/m<sup>2</sup>), Sacampaya (2,127 kg/m<sup>2</sup>) y Polonia (2,158 kg/m<sup>2</sup>). Mayor rendimiento se tuvo con el genotipo Pali blanca y el menor rendimiento con el genotipo Sacampaya, esto podría deberse a la carga genética de cada papa nativa. Al respecto Salinas (2002) señala que las diferencias en los rendimientos entre los diferentes genotipos de papa nativa se deben a las características propias de cada una de ellas.



**Figura 22. Efecto de los sustratos en el rendimiento total de los genotipos de papa nativa. Comparación de medias Duncan (5%).**

En cuanto al sustrato, según la prueba de comparación de medias de Duncan (5%) agrupa las medias en tres grupos bien marcados: arena+cascarilla de arroz (2,240 kg/m<sup>2</sup>), arena+aserrín (2,075 kg/m<sup>2</sup>) y arena+paja brava (2,246 kg/m<sup>2</sup>). Para los tres genotipos de papa nativa el sustrato arena+paja brava tuvo un rendimiento mayor respecto a la mezcla de arena + aserrín. Esto podría deberse a que cubrió con los requerimientos nutricionales para el cultivo de papa nativa a comparación de la nutrición que recibieron los sustratos hidropónicos (Sánchez, 2004).

Esto puede ser debido a muchos factores, pero según Calderón, (2001); FAO, (2003); Sánchez, (2004) los recomiendan el uso de cascarilla de arroz en sistemas hidropónicos por presentar buenas características como buena porosidad, buena retención de agua,

fácil manejo, y lo más importante para un sustrato hidropónico que facilite la salida de los excesos de agua.

Cortés (1981); mencionado por Tapia (1997) indica que las características morfológicas están altamente correlacionadas con el rendimiento, la altura de planta, el número y tamaño del tubérculo. PROINPA, (2007) por su parte indica que existe diferencias entre la producción de campo con los cultivos tradicionales y en estos el comportamiento de los ecotipos está ligado directamente a la carga genética. Lara (1999), en papa determinó un rendimiento máximo de 1,320 kg/m<sup>2</sup> de tubérculo-semilla a una densidad de 15 por 15 cm entre plantas, utilizando para ello un sustrato preparado a base de turba.

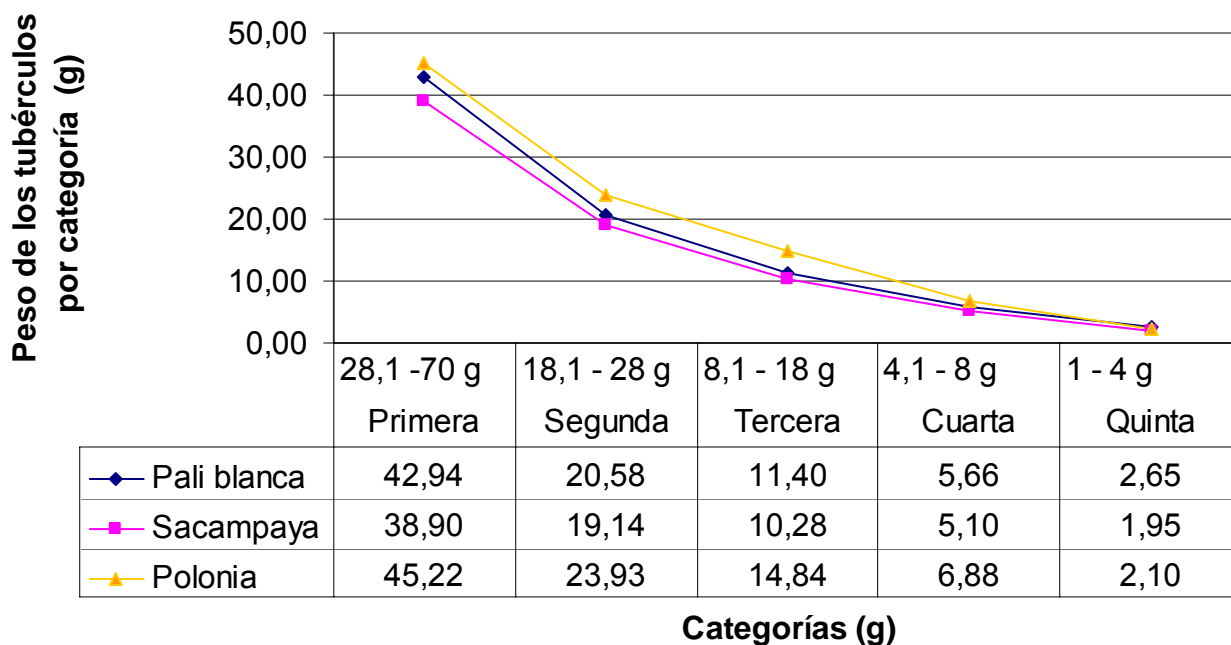
Patiño (2000), indica que el rendimiento está influenciado por factores como la densidad y época de siembra, calidad de semilla, niveles de fertilización y control fitosanitario. Al respecto (Antezana, 2001), indica que los mayores rendimientos dependen de factores como en el suelo, la ocurrencia de temperaturas elevadas durante períodos prolongados. El rendimiento óptimo depende de que los factores climáticos como la luminosidad, temperatura, humedad, concentración de dióxido de carbono y oxígeno sean adecuados.

Por lo tanto el rendimiento depende de diferentes factores dentro y fuera del área de producción, la temperatura, radiación solar, el material de la infraestructura y provisión de sales nutritivas son determinantes. Serrano (1979), indica que la energía solar que llega a la superficie de la tierra es de 0,9 calorías-gramo por centímetro cuadrado y por minuto, cuando la intensidad lumínica está por encima de 5000 lux se realiza fotosíntesis, cuando esta por debajo de 1000 a 2000 lux la planta detiene su desarrollo vegetativo y cuando es muy elevado reduce la asimilación fotosintética, también depende de la humedad relativa para cada especie.

#### **4.2.12 Clasificación de Tubérculos por Categoría**

En la Figura 23 y 24 se observa que la papa nativa Polonia tuvo mayor peso y tamaño: 45,22 gramos en sus tubérculos con un peso total de 3,668 kg de semilla de papa nativa pre-básica en la categoría primera, segunda 23,93 g con 4,355 kg, tercera 14,84 g con 4,844 kg y cuarta 6,88 g con 3,276 kg y Quinta 2,1 g con 2,44 kg. Y tubérculos con menor

peso y tamaño se encontró en el genotipo Sacampaya: la primera categoría 38,9 g con 3,996 kg , segunda 19,14 g con 3,952 kg, tercera 10,28 g con 4,518, cuarta 5,1 g con 3,417 kg y quinta categoría 1,95 g con 2,364 kg de semilla papa pre-básica. Mientras en el genotipo Pali blanca tuvo mayor cantidad de semilla de papa pre-básica en las cinco categorías: primera 4,965, Segunda 6,812, tercera 5,019, cuarta 3,098 y quinta 2,527 kilogramos, como se observa la Figura 23.

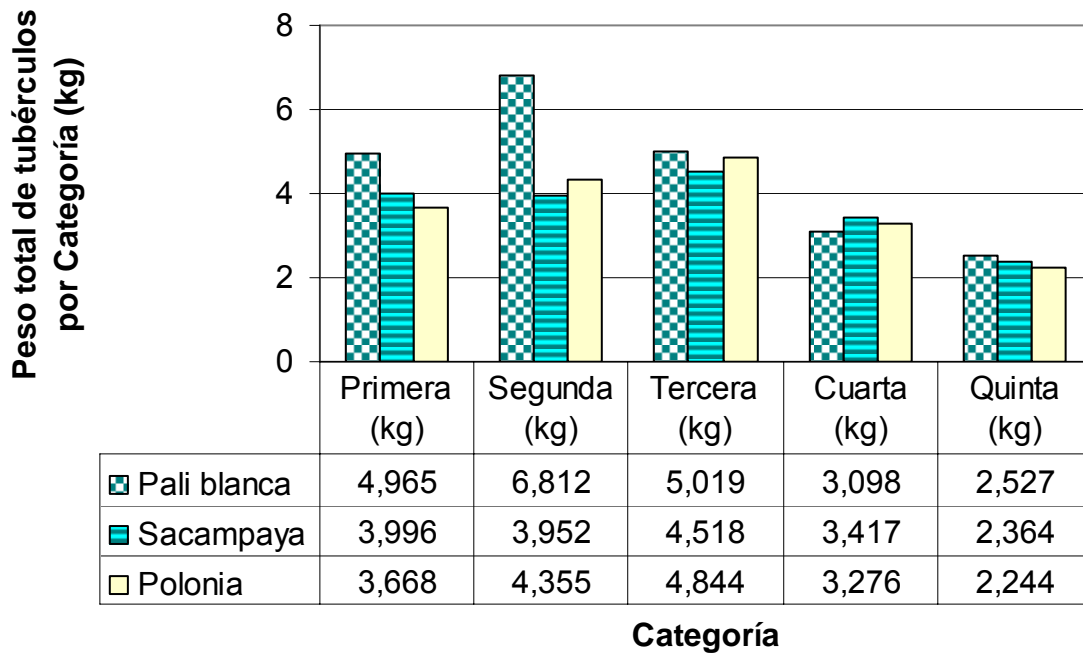


**Figura 23. Peso de los tubérculos por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia.**

Disminuye el promedio de los pesos de los tubérculos de las papas nativas en forma lineal de acuerdo a su tamaño (Figura 23). Según Corzo (1998), clasificar los tubérculos producidos en diferentes tamaños, de acuerdo al peso o tamaño promedio de la producción, esto proporcionará mayor uniformidad en el cultivo procedente de la siembra de los diferentes tamaños de tubérculos.

A su vez Pardavé (2004), indica que el potasio incrementa la eficacia en la elaboración y movilización de azúcares y almidones a los tubérculos incrementando así su tamaño. Al respecto Peña (1999), los factores que afectan el tamaño de los tubérculos está determinado por las siguientes características: duración del período de crecimiento,

crecimiento del tubérculo por día, número de tubérculos / m<sup>2</sup>, número de tallos principales / m<sup>2</sup>, densidad de tallos y número de tubérculos.



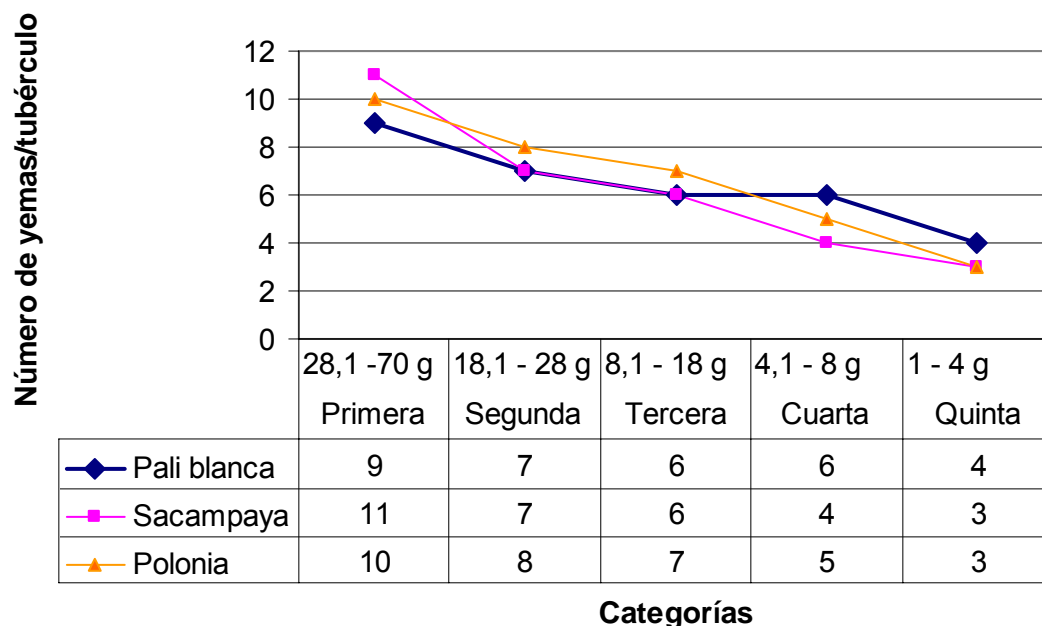
**Figura 24. Peso total de tubérculos por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia.**

Finalmente sumando los totales de las cinco categorías en forma horizontal la papa nativa Pali blanca tuvo 22,421 kg, Polonia 18,387 kg y Sacampaya 18,247 kg de semilla pre-básica de papas nativas, haciéndose un total de 59 kg obtenida de un área de 24,3 m<sup>2</sup> de las tres mezclas de sustratos hidropónicos. Entonces se puede indicar que con el sistema hidropónico se produce y tiene un buen rendimiento con los genotipos nativos, porque se adaptaron muy bien en los sustratos utilizados, posiblemente sea a la solución nutritiva que se aplicó en forma apropiada y muy bien manejadas tanto en la ventilación, capacidad de campo de las mezclas y humedad relativa del invernadero.

#### 4.2.13 Número de Yemas (ojos) por Tubérculo por Categoría

En el Figura 26 se observa las diferencias en las categorías en los tres genotipos de papa nativa en estudio para el variable número de yemas (ojos) de cada tubérculo, de acuerdo a su peso y tamaño por categoría. Con pesos de primera categoría entre los más grandes tubérculos la papa nativa Sacampaya consiguió 11 ojos, mientras el genotipo Polonia

consiguió 8 y 7 ojos en la segunda y tercera categoría; y tubérculos pequeños con menor peso Pali blanca en la cuarta y quinta 6 y 4 ojos (yemas). Esto debido a las características genotípicas de cada papa nativa y su comportamiento fisiológico. Además, esta variable es independiente de los sustratos estudiados (Maza *et al.*, 2007).



**Figura 25. Número de yemas (ojos) por tubérculo por categoría de los genotipos de papa nativa Pali blanca, Sacampaya y Polonia.**

Al respecto esta variable es muy importante en la producción de semilla de papa, por que a mayor número de ojos se puede tener mayor número de brotes de acuerdo a su tamaño del tubérculo, primordial en el proceso de introducción de brotes en la fase de laboratorio de cultivos de tejidos vegetales y para producción de semilla de papa a partir de los brotes.

#### 4.2.14 Análisis Económico

Para realizar el análisis de costos que presenta en el Cuadro 9, se realizaron un análisis de costos variables para cada sustrato como se muestra en el cuadro 5 del anexo.

**Cuadro 9. Beneficios Netos, Beneficios Brutos y Costos Variables de los Sustratos en estudio.**

Nº	DESCRIPCION	Sustratos		
		Cascarilla	Aserrín	Paja brava
1	Plántulas <i>in vitro</i>	400	400	400
2	Plastifilm	17	17	17
3	Papel aluminio	20	20	20
4	Alcohol	14	14	14
5	Fungicida	48	48	48
6	Nylon negro	61,25	61,25	61,25
7	Nylon transparente	61,25	61,25	61,25
8	Sustrato	88	88	148
9	Solución hidropónica	96	96	96
10	Fosfato diamónico	4	4	4
11	Fertilizante foliar	25	25	25
12	Riego	400	400	400
Total costos variables (Bs.)		1234,5	1234,5	1294,5
Total beneficios brutos (Bs.)		3780,4	3501,8	3790,7
Total beneficios netos (Bs.)		2545,9	2266,7	2496,2
Relación beneficio/costo		3,1	2,8	2,9

En el Cuadro 9 se observa que para la producción de semilla de papa nativa pre-básica se realizó en el sustrato arena + cascarilla de arroz un gasto de Bs. 1235; para el sustrato arena + aserrín Bs. 1235 y para el sustrato arena + paja brava Bs. 1295. La diferencia entre los costos variables es mínima. El sustrato en el que más se gastó fue en la paja brava ya que los costos de preparación del sustrato (picado) implicaron un costo adicional.



De la misma manera los beneficios brutos para la producción de la semilla pre-básica de papa nativa fueron Bs. 3780 con cascarilla, Bs. 3502 con aserrín y Bs. 3791 con paja brava. Esto se realizó tomando en cuenta el rendimiento para cada sustrato, obteniendo un mayor beneficio bruto del sustrato arena + paja brava picado con el que se obtuvo también mayor rendimiento.

En cuanto a los beneficios netos se obtuvo beneficios de: Bs. 2546 con cascarilla, Bs. 2267 con aserrín y Bs. 2496 con paja brava; obteniendo un mayor beneficio neto con el sustrato arena + cascarilla.

Las relaciones beneficio costo para los sustratos fue de 3,1 (cascarilla), 2,8 (aserrín) y 2,9 (paja brava); obteniéndose un mayor beneficio en el sustrato arena + cascarilla del cual se gana 2,1 bolivianos por cada 1 boliviano, es decir, más de lo invertido.

No se tomó en cuenta la diferencia entre genotipos ya que el costo de producción de los tres papas nativas es el mismo para cada sustrato, y los beneficios presentan una diferencia mínima no significativa (Cuadro 5 del anexo).

## 5. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- El mejor comportamiento morfológico *in vitro* en cuanto a las variables altura de vitroplanta (3,0 cm), número de nudos (13,15 nudos), presentó el genotipo Sacampaya; mientras en el número de hojas (9,8 hojas), número de brotes (1,8 brotes) y grado de enraizamiento Pali blanca.
- El porcentaje de prendimiento de las vitroplantas de papas nativas a sustratos artificiales después de la aclimatación fue el 99,4% para los genotipos Pali blanca, Polonia y para Sacampaya 89,6%.
- El genotipo Pali blanca tuvo mejor respuesta en cuanto al comportamiento morfológico respecto a las variables altura de planta (65,0 cm), velocidad de crecimiento (5,6 mm/día). En el variable diámetro de tallo el genotipo Polonia obtuvo un mayor grosor o diámetro de los tallos (3,5 mm).
- En cuanto al efecto del sustrato para la producción de semilla pre-básica en papa nativa el sustrato preparado con 50% arena + 50% de cascarilla de arroz fue el que obtuvo mejores resultados respecto a la variable altura (64,8 cm), velocidad de crecimiento (5,6 mm/día). El sustrato preparado con 50% arena + 50% de paja brava picado fue el de mejor respuesta para la variable diámetro de tallo (3,5 mm). En cambio el sustrato compuesto por 50% de arena + 50% de aserrín presentaron los más bajos índices en las variables estudiadas ya mencionadas.
- En las fases fenológicas de los tres genotipos de papa nativa, la floración se inicia en Sacampaya a los 87 días mientras en Polonia y Pali blanca a los 97 días. Y la cosecha se realizó a los 160 días después de la aclimatación de las vitroplantas.

- El rendimiento total en la producción de semilla pre-básica de papa, el genotipo Pali blanca obtuvo un rendimiento de 2,276 kg/m<sup>2</sup> superior a Sacampaya (2,127 kg/m<sup>2</sup>) y Polonia (2,158 kg/m<sup>2</sup>).
- En cuanto a la variable rendimiento y número de tubérculos por planta en la producción de semilla, el sustrato compuesto por 50% arena + 50% de paja brava obtuvo un rendimiento de 2,246 kg/m<sup>2</sup> superior a los otros tratamientos y mayor número de tubérculos por planta (13,6 tubérculos/planta). En cuanto el sustrato compuesto por 50% arena + 50% aserrín tuvo un mayor peso de tubérculos por planta (125 gramos/planta) respecto a otros tratamientos.
- El sustrato que ofrece mayor beneficio costo es el sustrato compuesto por 50% de arena + 50% de cascarilla de arroz con un valor de 3.1, con un mayor beneficio neto y con un costo variable de Bs. 1235. Sin embargo por los costos variables fue rentable con el sustrato con cascarilla de arroz. El sustrato paja brava tuvo el mayor costo variable de Bs. 1295. Aunque en los tres sustratos estudiados son rentables para la producción de semilla pre-básica de papa nativa desde las plántula *in vitro*.

## 6. RECOMENDACIONES

Con las conclusiones obtenidas se llegan a las siguientes recomendaciones, en base a la experiencia y resultados obtenidos en el trabajo de investigación:

1. Para el caso de los genotipos Pali blanca, Sacampaya y Polonia, se recomienda de que la multiplicación y aclimatación de las vitroplantas se realice una vez que éstas, en condiciones *in vitro* tengan mayor altura de desarrollo, mayor diámetro de tallo y con mayor número de nudos, para facilitar la micropropagación y el prendimiento.
2. El sustrato preparado con arena y cascarilla de arroz, paja brava picada y aserrín se utilice para la producción de semilla pre-básica de tubérculos nativos, ya que son materiales en desuso, debido a que las plantas tuvieron un buen comportamiento en todo el ciclo de producción y se obtuvo mayores rendimientos.
3. Se recomienda profundizar en la utilización y la dosis de la solución hidropónica en diferentes cultivos nativos que representa una alternativa para el futuro. Ya que se observó en esta investigación menor incidencia de enfermedades y fácil manejo, y es rentable en comparación al sistema tradicional de producción.
4. Se recomienda la producción y evaluación de las papas nativas Pali blanca, Sacampaya y Polonia en campo para seguir exactamente sus fases fenológicas.
5. Se recomienda realizar trabajos similares con otros tipos de papas nativas susceptibles a la erosión genética, para obtener y comparar los rendimientos obtenidos en invernadero como semilla prebásica.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

**ADREIL, et al. 1989.** Desarrollo de sistemas de semilla. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Santa Cruz, Bolivia. Pp. 1-24.

**AGRARIA, s.f.** Reproducción de Hortalizas. Consultado 9 de agosto de 2007. Disponible en: [agrarias.tripod.com/metodos\\_cultivo.htm-113k](http://agrarias.tripod.com/metodos_cultivo.htm-113k)-En caché-Páginas similares.

**ALVARADO, F. 1986.** Crecimiento del cultivo de papa. Bogotá, Colombia. CIP,ICA. 202 p.

**ÁLVAREZ, 2007.** Hidroponía. Consultado en: 24 de septiembre de 2007. Disponible en: <http://members.fortunecity.es/jalvarezg/>

**ANTEZANA, L. F. 2001.** Determinación del rendimiento potencial de cultivos priorizados de papa (*Solanum tuberosum*), Oca (*Oxalis tuberosa* Mol) e isaño (*Tropaeolum tuberosum* R&P) en el departamento de Cochabamba. Tesis Ing. Agr. Cochabamba, Bolivia. UMSS-FCA y P. 120 p.

**BARREIRA, E. 1978.** Fundamentos de edafología para la agricultura. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 172 p.

**BERTSCH, F. 1995.** La Fertilidad de los suelos y su manejo. 2da Edición. San José, Costa Rica, INPOFOS. Pp. 138-139.

**CAHIERS, O. M. 1999.** Cultivos hidropónicos. Disponible en: <http://tecnociencia.es.especiales/cultivohidroponicos/>

**CALDERÓN S. F. 2001.** Cultivo de flores. Bogota, Colombia. Disponible en: <http://www.dicalderonlabs.com/index.html>

- CALZADA, B. 1985.** Métodos estadísticos para la investigación. 5ta. Edición. S.A. Lima, Perú. Milagros. Pp. 421 – 431.
- CANAHUA, A. 1991.** Agroecología de las papa amargas en Puno In: 1 Mesa redonda. Perú-Bolivia, La Paz, Bolivia. Pp. 57-68.
- CASTELLÓN, M. M. 2000.** Evaluación de siete sustratos y aplicación de un retardador de crecimiento para el desarrollo de Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*). Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre “Bolivia”. La Paz, Bolivia. 96 p.
- CORTÉS, H. 1981.** Alcances de la investigación en tubérculos andinos. Oca, Olluco e isaño. En: Curso sobre manejo de la producción agraria en laderas. Ministerio de Agricultura/IICA. Serie resultados y recomendaciones de eventos técnicos N° 235. Huaraz, Perú.
- CONTRERAS, A. 2002.** Ecofisiología del rendimiento de la planta de papa. Revista de la papa. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Chile ACHIPA Chile Vol. 4 N° 1. 303 p.
- CORZO, C. P. 1998.** Producción de semilla de papa con alta calidad sanitaria por medio de esquejes. Memorias, Curso-Taller. Corpoica-SENA. 42 p. Colombia. Consultado en: 22 de enero de 2009. Disponible en: <http://www.redepapa.org/produccionred.html>
- CORZO, et al 2000.** Curso – Taller de papa de buena calidad. Corpoica, Minagricultura, Fedepapa, Cevipapa, Universidad Nacional e ICA. Colombia. Consultado en: 22 de enero de 2009. Disponible en: <http://www.redepapa.org/produccionred.html>
- COCA, M. 2000.** Informe anual de la Estación Experimental de Belén. La Paz, Bolivia. 50 p.

- CHACOLLA, A. E. 2001.** Enraizamiento de esquejes de Rosa (*Rosa sp*) en cuatro sustratos. Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre “Bolivia”. La Paz, Bolivia. 89 p.
- DAZA, P. J. 2006.** Análisis estadístico con SPSS 14 Lo nuevo. Grupo Editorial Megabyte. Primera Edición. Lima, Perú. 307 p.
- DANIELS, J. 1983.** Sistema de producto de batata – semente em implatacao no Río Grande do Sul. IPAGRO/SEAGRI, 3, Encontro de Olericultura Cone Sul, I. Pelotas, Brasil. 29 p.
- DUBOIS, P. 1980.** Los plásticos en la agricultura. Ediciones Mindi – Prensa. Madrid, España. Pp. 205
- ESTEEL R. Y TORRIE J. 1996.** Bioestadística. Principios y Procedimientos. 2da. Edición. McGRAM- HILL/ INTERAMERICANA DE MÉXICO, S.A. DE C.V. 622 p.
- EYERBE, L.; SAGASTI, M. 1990.** Cultivo *in Vitro* de plantas superiores. PRZCIPA. Madrid (España). Mundi Prensa. Pp. 127-132.
- FAO, 2003.** Hidroponía Familiar. Cultivos de esperanzas con rendimientos de paz. México. Pp. 41-79.
- FAUBA. 2006.** La huerta urbana. Sustrato para macetas. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía. Consultada el 24 de febrero de 2006. Disponible en: <http://www.huerta urbana.org>
- FORONDA, M. H. 1999.** Efecto de la distancia de siembra y niveles de fertilización mineral de pequeños tubérculos semilla en el crecimiento y productividad del cultivo de papa. Tesis Lic. Ing. Agr. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. 86 p.

- FILIPPETTI, V. H. 2007.** Cultivos hidropónicos. Consultado en: 24 de septiembre de 2007. Disponible en: [http://hidroponia.gcaconsultora.com.ar/info\\_hidrop.html](http://hidroponia.gcaconsultora.com.ar/info_hidrop.html)
- FRÍAS, C. M. P. 2005.** Evaluación de tres tipos de cobertores en fase de aclimatación de plántulas de origen *in Vitro* en la producción de semilla de papa pre-básica (*Solanum tuberosum* spp. *andigena* y *Solanum x jusepzuckii*). Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. 127 p.
- GARCÍA, G.; CEVALLOS, A.; ESTRELLA, D. 1993.** Producción de semilla de papa de alta calidad sanitaria a partir de cultivo de tejidos. Boletín técnico N° 73 Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Ecuador. Pp. 4.
- GARMAN, H. W. 1992.** Manual de fertilizantes. 10 reimpr. Limusa. México. Pp. 47-49.
- GRUPO LATINO. 2006.** Biblioteca Agropecuaria. Volvamos al Campo (Tomo II). Ed. 2006. Impreso en Colombia - Printed in Colombia. Pp. 827.
- GÓMEZ, V. E. 2008.** Curso sobre Producción de Semilla Pre-básica. División de Agricultura Biotecnología Vegetal. IBTEN – CIN – Viacha. s/p.
- GABRIEL, J. et al. 1999.** Papa nativa Boliviana: potencial para nuevas fuentes de resistencia durable al tizón de la papa (*Phytophthora infestans*). **En:** Memorias. 2da Reunión Boliviana sobre Recursos Fitogenéticos de Cultivos Nativos. pp. 187
- HARTMAN, K. 1997.** Propagación de plantas. 2da. Edición. Continental S.A. México. Pp. 549-876; 594-607.
- HERNÁNDEZ, R. 2001.** Nutrición mineral. (en línea). Venezuela. Consultado en: 13 de noviembre de 2005. Disponible en: [www.forest.ula.ve/rubenhg/nutricionmineral](http://www.forest.ula.ve/rubenhg/nutricionmineral)
- HURTADO, D. Y MERINO, M. 1994.** Cultivo de Tejidos Vegetales. Tercera reimpresión. Editorial Trillas S.A. de C.V. México. 233 p.



**JARRET, R.; HASEGAWA, P.; ERICSSON, H. 1980.** Factors affecting shoot initiation from tuber discs of potato *solanum tuberosum*. *Physiol plant* 49. Pp. 177-184.

**INE (Instituto Nacional de Estadística), 2009.** Mapa Político de Viacha-La Paz-Bolivia. Consultado en: 17 de enero de 2009. Disponible en: [http://images.google.com.bo/Mapa Político de Viacha](http://images.google.com.bo/Mapa%20Pol%C3%ADtico%20de%20Viacha).

**KLOOS, J. CAERO, G. 1992.** Sistemas de producción de semilla de papa. In. II Curso sobre Producción de papa con énfasis en semilla. PROSEMPA – CNS – MCTH – EUROCONSULT. Uncía – Potosí, Bolivia s. / p.

**LARA, C. E., 1999.** Niveles de fertilización mineral y densidades de transplante en plántulas obtenidas de cultivo *in vitro* para producción de semilla pre-básica de papa en invernadero. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. 106 p.

**LÓPEZ, C. 2001.** Reacciones de hipersensibilidad en plantas cultivadas *in Vitro*. Edición electrónica de Encuentros en la Biología, revista editada en la Facultad de Ciencias de Málaga. Consultada 8 de agosto de 2008. Disponible en: [www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/26reacciones.html](http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/26reacciones.html).

**MENDOZA, V. H. 2007.** Apuntes de Cultivos de Tejidos Vegetales. Docente de Biotecnología Vegetal. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. s/p.

**MELLADO, Z. M. 2004.** Modulo I, Introducción al mejoramiento genético vegetal. Conceptos básicos. Curso Internacional en Mejoramiento y Mantenimiento de Variedades. Programa Nacional de Semillas Bolivia

**MONTALVO, A. 1984.** Cultivo y Mejoramiento de la papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura. San José, Costa Rica. Pp. 676.

- NARRO, F. E. 1994.** Física de suelos: con enfoque agrícola. México. Trillas UAAAN. Pp. 49-51.
- OCHOA, C. N. 1990.** Las papas de Sudamérica Bolivia, Edición original en Ingles, The potatoes of South América Bolivia, Cambridge University, Pres. 1900 impreso en Bolivia. pp. 402 – 466.
- OIRSA, 2002.** Manual de producción de sustratos para viveros (en línea). Consultado el 18 de noviembre de 2005. Disponible en: <http://www.oirsa.org>
- ONTIVEROS, C. R. E. 2001.** Efecto de la Aplicación ácidos húmicos y bioestimulantes en el cultivo de papa amarga (*Solanum Juzepczukii*) en Suka Kollus. Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre “Bolivia”. La Paz, Bolivia. 130 p.
- PALACIOS, N.A. 2002.** Riego en tiempo real para la producción de semilla pre-básica en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* sp. *andigena*). Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. 94 p.
- PATIÑO, J. F. 2000.** Rendimiento potencial de papa nativa (*Solanum tuberosum* ssp. *Andigena* y *stenotonum*), paraliza (*Ullucus tuberosu*), oca (*oxalis tuberosa* Mol.) e isaño (*Tropaeolum tuberosum* R&P), en la localidad de Candelaria (Provincia Chaparé-Cochabamba), Tesis Ing. Agr. Cochabamba, Bolivia, FCA Y P-UMSS. Pp. 1-90
- PARDAVÉ, C. 2004.** Cultivo y comercialización del cultivo de papa. Palomino, Perú. 133 p.
- PEÑA, V. L. A. 1999.** Fisiología y manejo de tubérculos-semilla de papa. Corpoica, Colombia. Consultado en: 22 de enero de 2009. Disponible en: <http://www.redepapa.org/fisiologiared.html>

**PLAZA, C. B. A. 2002.** Efecto de seis sustratos y dos métodos de trasplante, en la adaptación de vitroplantas de frutilla (*Fragaria x Annanassa Duch. c.v. fern*). Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre “Bolivia”. La Paz, Bolivia. 115 p.

**PROINPA. 1994.** Instituto boliviano de tecnología agropecuaria IBTA programa de investigación de la papa Proinpa convenio IBTA-CIP-COTESU, catalogo boliviano de cultivares de papa nativa No. 2, Cochabamba – Bolivia. p 31.

**PROINPA, 2007.** Nuevos estudios sobre tubérculos andinos. Consultados 5 de marzo de 2007. Disponible en: [www.proinpa.org/recursos\\_geneticos/documento2.pdf](http://www.proinpa.org/recursos_geneticos/documento2.pdf); [proinpa@proinpa.org](mailto:proinpa@proinpa.org)

**QUEZADA, P. J. A. N. 1999.** Evaluación del potencial de regeneración de dos ecotipos de Ajo (*Allium sativum* L.) en el proceso de microbulbificación *in vitro*. Tesis de Grado. Escuela Militar de Ingeniería. Mcal. Antonio José de Sucre “Bolivia”. La Paz, Bolivia. 112 p.

**REDEPAPA, 2008.** Consultado en: 3 de mayo de 2007. Disponible en: <http://www.redepapa.org/>

**ROCA, W. M. Y MROGINSKY, L. A. 1991.** Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. CIAT. Cali, Colombia. Pp. 98

**RODRÍGUEZ, R. M. 2000.** Morfología y Anatomía Vegetal. Tercera edición. Cochabamba, Bolivia. Pp. 501 - 508

**SCIELO, 2007.** Agroalimentaria. Consultado en: 3 de mayo de 2007. Disponible en: <http://www2.scielo.org.ve/>

**SÁNCHEZ, C. 2004.** Hidroponía. Paso a paso cultivo sin tierra. Granja y negocios. Ediciones Ripalme. Lima, Perú. 134p.

- SALAS, J. 1995.** Producción de semilla pre-básica de papa. FONAIAP DIVULGA. Colección N° 48. CIAE Mérida. Consultado en: 11 de septiembre de 2008. Disponible en: <http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/>
- SALINAS, S. 2000.** Validación del modelo de simulación Lintul (Light intercepción and utilización) para estimar el daño de las heladas en el cultivo de papa (*Solanum* ssp.). Tesis Lic. Ing. Agr. La Paz, Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. 217 p
- SEMTA. 1991.** Manual de Cultivos Protegidos. La Paz, Bolivia. Pp. 120.
- SERRANO, C. Z. 1979.** Cultivo de hortalizas en invernaderos. Premio Agrícola Aedos. Editorial AEDOS-Barcelona (España). Pp. 11-67.
- TAPIA, M. E. 1997.** Cultivos andinos sub. explotados y su aporte a la alimentación oficina regional de FAO para América Latina y el Caribe. 2da Edición. Santiago, Chile. Pp.88-144.
- TODOPAPA, 2008.** Consideraciones generales en la fertilización del cultivo de papa. Consultado en: 11 de septiembre de 2008. Disponible en: <http://www.todopapa.com.ar/?OpcionID=Nutricion>
- TRIGO, J. 1994.** Evaluación en invernadero de plántulas de dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* sp. andigena) provenientes de diferentes medios de cultivo *in Vitro*. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Simón. Facultad de Agronomía. Cochabamba, Bolivia. 105p.
- VILLAROEL, G. 1997.** Curso sobre protección vegetal y producción de semilla de papa. Estación Experimental Belén. La Paz, Bolivia. Pp. 52.
- WIERSEMA, S. 1987.** Efecto de la densidad de tallos en la producción de papa. CIP. Lima, Perú. Pp. 16 – 18.

**YUCRA, S. E. E. 2006.** Evaluación de cinco cultivares de papa (*Solanum tuberosum* ssp) tolerantes a heladas en el comportamiento microclimático de dos agroecosistemas (Suka kollu y Pampa) en el Altiplano norte. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. U.M.S.A. La Paz, Bolivia. 139 p.

**ZÁRRAGA S. C. Y L. GRANADA C. 1990.** Micropropagación *in vitro* de Gerbera (*Gerbera jamesonii*). Boletín informativo de FIRA 216 (22): Pág. 14-20

# ANEXOS

**Cuadro 1. Solución Stock de Murashige y Skoog (1962)**

<b>Sol.</b>	<b>N o m b r e</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>P e s o (mg)</b>
<b>A</b>	Nitrato de amonio	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650
	Nitrato de potasio	$\text{KNO}_3$	1900
	Cloruro de calcio dihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4400
	Fosfato monobásico de potasio	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
	Ácido bórico	$\text{H}_3\text{BO}_3$	6,2
	Sulfato manganeso tetrahidratado	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
	Sulfato de zinc heptahidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
	Yoduro de potasio	$\text{KI}$	0,83
	Molibdato de sodio dihidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
	Sulfato de cobre pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
	Cloruro cobaltoso hexahidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
<b>B</b>	Sulfato de magnesio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
<b>C</b>	EDTA disódico	$\text{Na}_2\text{EDTA}$	37,3
	Sulfato ferroso heptahidratado	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8
<b>D</b>	Myo-inositol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	100
<b>E</b>	Tiamina-HCl		0,1
	Glycina		2
	Acido nicotínico		0,5
	Pyridoxina-HCl		0,5

**Fuente:** IBTEN (2007)




**Cuadro 2. Sales para la Solución Hidropónica**


<b>FUENTES</b>	<b>FÓRMULA</b>	<b>CANTIDAD (g) para 8 litros de solución</b>	<b>Solución Concentrada</b>
<b>Fosfato Mono Amónico MAP Cristalino (12-61-0)</b>	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	510*	A
<b>Nitrato de Calcio</b>	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	120*	
<b>Nitrato de potasio</b>	$\text{KNO}_3$	1650 *	
<b>Sulfato de magnesio</b>	$\text{MgSO}_4$	738	B
<b>Sulfato de cobre</b>	$\text{CuSO}_4$	0,72	
<b>Sulfato de zinc</b>	$\text{ZnSO}_4$	1,8	
<b>Sulfato de manganeso</b>	$\text{MnSO}_4$	3	
<b>Acido bórico</b>	$\text{H}_3\text{BO}_3$	9,3	
<b>Molibdato de amonio</b>	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	0,03	
<b>Quelato de hierro</b>		25,38	



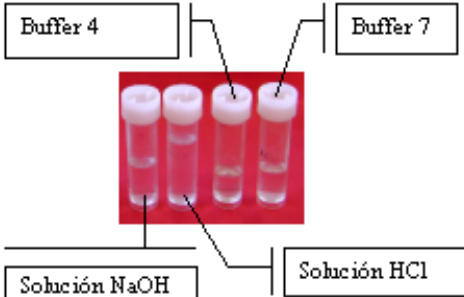

\*Para preparar 20 litros concentrados. **Fuente:** FAO (2003) modificado por CIN-IBTEN



**Cuadro 3. Equipos e Instrumentos utilizados en Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales-División Agricultura-CIN-VIACHA.**




<b>Equipos e Instrumentos</b>	<b>Descripción</b>
<p><b>Cámara de Flujo Laminar</b>                      Marca: Enviar (UK) LTD</p> 	<p>Esta Cámara de flujo laminar se utilizó para micropropagación de las vitroplantas, para evitar la contaminación de los explantes introducidas y multiplicadas. Porque es una cámara de trabajo estéril que se hace circular a través del interior de la cámara (Filtro HEPA) una corriente de aire horizontal constante (aire esterilizada) que circula de adentro hacia fuera.</p>
<p><b>Autoclave</b>                      Marca: Forge Sterilmatic</p> 	<p>Este equipo Autoclave se utilizó para la esterilización de Medio de Cultivo, materiales de micropropagación y agua destilada por vapor a calor. La esterilización se realizó a 121 °C, 1 atmósfera de sobrepresión durante un tiempo superior a 15 -20 min.</p>
<p><b>Balanza Analítica</b>                      Marca: METTLER PM 2000</p> 	<p>Esta balanza analítica es un instrumento muy preciso, y ésta se utilizó para pesar reactivos de menor cantidad especialmente en el momento de preparar la Solución Stock (Solución Madre).</p>
<p><b>pH Metro</b>                      Marca: HANNA instriments</p> 	<p>El pH-metro fue una herramienta primordial en la fase de laboratorio, que sirve para ajustar el Medio de cultivo a pH=5,7. Y para medir el pH de los sustratos de cascarilla de arroz, paja brava y aserrín mezcladas con arena cada una de ellas, para producción de los tres genotipos de papa nativa (Pali Blanca, Sacampaya y Polonia).</p>

<p><b>Microonda</b>  Marca: SAMSUNG</p> 	<p>Constantemente este equipo microonda fue utilizado para diluir el agar, azúcar después de su preparación del Medio de cultivo líquido.</p>
<p><b>Matraz erlenmeyer</b></p> 	<p>Estos recipientes de vidrio de diversos volúmenes (100, 200, 500 ml) se empleó en el laboratorio para calentar líquidos y diluir reactivos, cuando hay peligro de pérdida de vaporización, justo en el momento de la Preparación de Solución Stock.</p>
<p><b>Pipetas</b></p> 	<p>Estas pipetas de vidrio de diferentes volúmenes (1, 5, 10, 25 ml) se usó para medir los líquidos con mayor exactitud, en la preparación de Medios de Cultivo y Solución Stock.</p>
<p><b>Probeta Graduada</b>  (1000 ml)</p> 	<p>Probeta graduada de 1000 ml, instrumento de laboratorio de vidrio se empleó para la mezcla en la Preparación de Medio de Cultivo, Solución Stock y para preparar alcohol al 70%.</p>
<p><b>Agitador magnético</b></p> 	<p>Este agitador se utilizó para diluir azúcar, para tener una mezcla bien uniforme en la preparación del medio de cultivo y justo para ajustar el pH del mismo. (Para ello se utiliza el magneto al interior de la mezcla para que gire y gire).</p>

<p><b>Balanza a granel</b></p> 	<p>Esta balanza a granel de dos decimales a sido muy utilizado para pesar azúcar, agar, reactivos, funguicidas (Benomyl), tubérculos cosechadas de las camas de producción del invernadero.</p>
<p><b>Refrigerador</b></p> 	<p>Este refrigerador se utilizó para guardar especialmente las Soluciones Stock (A, B, C, D y E), Solución Buffer (4 y 7) para calibrar el pH-metro y solución tampón (HCl y NaOH a 0,1 N) para ajustar el pH del medio de cultivo.</p> 
<p><b>Materiales de Micropropagación</b></p> 	<p>Estos materiales de micropropagación son de mayor uso en la fase de laboratorio que se observa en la figura (Probeta, frascos pirex, piseta, bomba de succión, pinzas, pipetas, bisturí, tijera, placa petri, cucharillas, espátula, gotero, papel aluminio, vasitos, plastifilm, toalla, regla, matraz erlenmeyer), se utilizó para preparar medios de cultivo y solución stock para micropropagación de las vitroplantas de los genotipos de papa nativa.</p>

**Fuente:** Elaboración propia

**Cuadro 4. Soluciones Stock, Compuestos Orgánicos y Agente geleificante para preparar 100 ml de Medio de Cultivo.**

<b>Soluciones Stock (MS)</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Observación</b>
Solución A*	10 ml	
Solución B*, C, D	5 ml	
Solución E	0,5 ml	
<b>Compuestos orgánicos</b>		
Sacarosa	3 g	
<b>Agente gelidificante</b>		
Agar	0,65 g	

\* Solución en frasco de color Ambar. **Fuente:** CIN-IBTEN (2007)

### Cuadro 5. Costos de producción de semilla pre-básica de papa nativa.

#### Análisis de costos para la producción de tubérculos de papa nativa en el Sustrato 50% arena + 50% cascarilla de arroz (superficie 8,10 m<sup>2</sup>)

N°	DESCRIPCION	UNIDAD	PRECIO UNITARIO (Bs.)	CANTIDAD	PRECIO TOTAL (Bs.)
1	Plántulas <i>in vitro</i>	Plántula	0,5	400	400
2	Plastifilm	Rollo	17	1	17
3	Papel aluminio	Rollo	20	1	20
4	Alcohol	lt	7	2	14
5	Benomyl	kg	80	0,1	8
6	Fungicida	Kg	80	0,5	40
7	Nylon negro	m	3,5	17,5	61,25
8	Nylon transparente	m	3,5	17,5	61,25
9	Arena	m3	60	1	60
10	cascarilla de arroz	Saco	7	4	28
11	Solución hidropónica	lt	8	12	96
12	Fosfato diamónico	Kg	4	1	4
13	Fertilizante foliar	Kg	25	1	25
14	Riego	Jornal	20	20	400
	TOTAL COSTOS	Bs.			1234,5
	TOTAL BENEFICIOS BRUTOS	Kg	187,5	20,162	3780,4
	TOTAL BENEFICIO NETO	Bs.			2545,9
	BENEFICIO/COSTO	Bs.			3,1

#### Análisis de costos para la producción de tubérculos de papa nativa en el Sustrato 50% arena + 50% Aserrín (superficie 8,10 m<sup>2</sup>)

N°	DESCRIPCION	UNIDAD	PRECIO UNITARIO (Bs.)	CANTIDAD	PRECIO TOTAL (Bs.)
1	Plántulas <i>in vitro</i>	Plántula	0,5	400	400
2	Plastifilm	Rollo	17	1	17
3	Papel aluminio	Rollo	20	1	20
4	Alcohol	lt	7	2	14
5	Benomyl	kg	80	0,1	8
6	Fungicida	Kg	80	0,5	40
7	Nylon negro	m	3,5	17,5	61,25
8	Nylon transparente	m	3,5	17,5	61,25
9	Arena	m3	60	1	60
10	Aserrín	Saco	5	4	28
11	Solución hidropónica	lt	8	12	96
12	Fosfato diamónico	Kg	4	1	4
13	Fertilizante foliar	Kg	25	1	25
14	Riego	Jornal	20	20	400
	TOTAL COSTOS	Bs.			1234,5
	TOTAL BENEFICIOS BRUTOS	Kg	187,5	18,676	3501,8
	TOTAL BENEFICIO NETO	Bs.			2266,7
	BENEFICIO/COSTO	Bs.			2,8

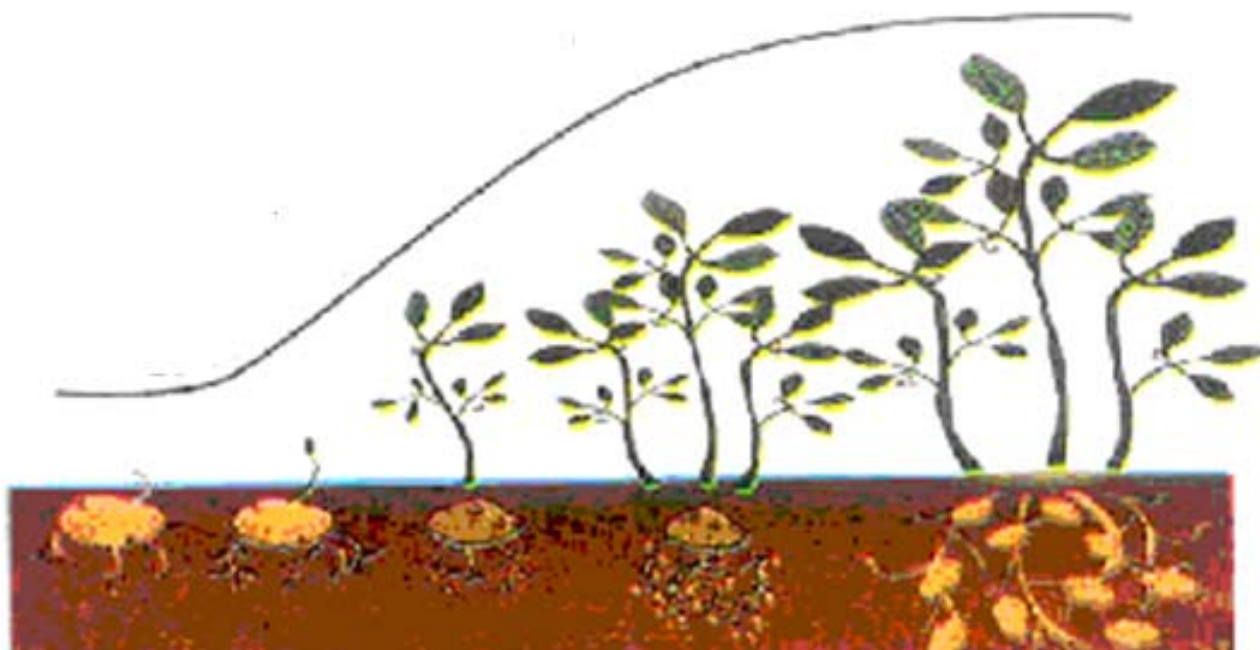
**Análisis de costos para la producción de tubérculos de papa nativa en el  
Sustrato 50% arena+50% Paja brava (superficie 8,10 m2)**

N°	DESCRIPCION	UNIDAD	PRECIO UNITARIO (Bs.)	CANTIDAD	PRECIO TOTAL (Bs.)
1	Plántulas <i>in vitro</i>	Plántula	0,5	400	400
2	Plastifilm	Rollo	17	1	17
3	Papel aluminio	Rollo	20	1	20
4	Alcohol	lt	7	2	14
5	Benomyl	kg	80	0,1	8
6	Fungicida	Kg	80	0,5	40
7	Nylon negro	m	3,5	17,5	61,25
8	Nylon transparente	m	3,5	17,5	61,25
9	Arena	m3	60	1	60
10	Paja brava	Saco	7	4	28
11	Picado de paja	Jornal	30	2	60
12	Solución hidropónica	lt	8	12	96
13	Fosfato diamónico	Kg	4	1	4
14	Fertilizante foliar	Kg	25	1	25
15	Riego	Jornal	20	20	400
	TOTAL COSTOS	Bs.			1294,5
	TOTAL BENEFICIOS BRUTOS	Kg	187,5	20,217	3790,7
	TOTAL BENEFICIO NETO	Bs.			2496,2
	BENEFICIO/COSTO	Bs.			2,9

**Cuadro 6. Inicio de cada fase fenológica de las tres papas nativas a partir de vitroplantas**

Tiempo transcurrido (días) al inicio de cada fase fenológica para las tres papas nativas a partir de vitroplantas							
Papa nativas	Aclimatación	Desarrollo	Crecimiento y Estolonamiento	Tuberización y Floración	Madurez Fisiológica	Defoliación	Cosecha
Pali blanca	14	32	59	97	115	154	160
Sacampaya	14	32	59	87	115	154	160
Polonia	14	32	59	97	115	154	160
				Fosfato diamónico (FDA)			
				Fertilizante foliar (Nitro-Foska-Maduración)			

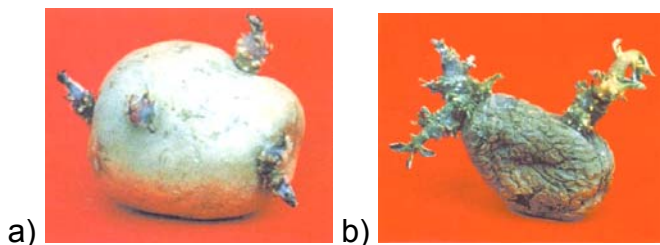
**Figura 7. Fase fenológica del cultivo de papa.**



Plántula	Desarrollo	Crecimiento (tuberización)	Producción	Madurez fisiológica	
Tiempo en días					
0	10	30	80	100	Clima Cálido
0	20	50	80	120	Clima Frío

Fuente: TODOPAPA, 2008

**Figura 8. Edad de brotación múltiple y senescencia**



a) Edad de *brotación múltiple*, en la cual la semilla muestra más de un brote; b) *Senescencia*, edad en la cual la semilla ha perdido reservas y se observa flácida y arrugada.