



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE BIOLOGÍA

**Introducción al cultivo *in vitro* de cultivares nativos de
papa de la Sierra Sur del Ecuador**

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de:

BIÓLOGA

Autora: Medina Aguiñaca, Diana Karolina

Director: Loján Armijos, Paúl Diego

LOJA

2025



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2025

Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular

Loja, 14 de marzo de 2025

Doctor,

Darío Javier Cruz Sarmiento

Director de la Carrera de Biología

Ciudad.-

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Titulación denominado: Introducción al cultivo *in vitro* de cultivares nativos de papa de la Sierra Sur del Ecuador realizado por Diana Karolina Medina Aguiñaca ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Dr. Paúl Diego Loján Armijos

Director del Trabajo de Titulación

C.I.:1103885396

Correo electrónico: pdlojan@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Diana Karolina Medina Aguinsaca, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autora del Trabajo de Titulación denominado: Introducción al cultivo *in vitro* de cultivares nativos de papa de la Sierra Sur del Ecuador, de la carrera de Biología, específicamente de los contenidos comprendidos en: Introducción, Metodología, Resultados, Discusiones, Conclusiones siendo Paúl Diego Loján Armijos, director del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, con relación a la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”, en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autora, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....

Autor: Diana Karolina Medina Aguinsaca

C.I.: 1150424362

Correo electrónico: dkmedina3@utpl.edu.ec

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis padres, por su amor, su paciencia y por enseñanza. A mis hermanos, por estar a mi lado y por ser mi ejemplo constante de superación. A mis abuelitos por cada momento familiar indescriptible. En especial, a mi mascota que siempre es una compañía en mis momentos más vulnerables.

Agradecimiento

Quiero expresar mi total agradecimiento a mi familia, por su apoyo para culminar mi carrera de Biología. En especial a mis hermanos, Juan Carlos y Katty, por ser una guía constante en el ámbito de las ciencias y dedicación al estudio, y a mis padres, Carmita y Carlos, por brindarme su apoyo día constante.

Agradezco especialmente al Dr. Paul Loján, director de mi tesis, por su invaluable orientación y compromiso a lo largo de este proceso. Al Mgs. Máximo Moreira por sus revisiones y supervisión del trabajo y redacción. Asimismo, extendo mi gratitud al técnico Víctor Gavidia del Banco de Germoplasma, quien me motivó a abordar este tema de titulación; a la Mgs. Karla Estrada y al técnico Leonardo Román del laboratorio de biotecnología vegetal y ambiental, por su apoyo y guía en cada etapa experimentación.

A mis amigos, Gloria, Nekane, Rayza, Nicole, Erika y Kevin, quienes han sido fundamentales en mi vida universitaria y un gran grupo. En especial, agradezco a Gloria por su guía, motivación y compañía durante el trabajo de laboratorio, así como una gran consejera; a Kevin, por su apoyo incondicional y su constante compañía; y a Nicole, por ser una excelente maestra en el ámbito de la biotecnología vegetal, por su paciencia y enseñanzas.

Índice de contenido

Carátula	I
Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular	II
Declaración de autoría y cesión de derechos	III
Dedicatoria	V
Agradecimiento	VI
Índice de contenido	VII
Resumen.....	1
Abstract	2
Introducción	3
Capítulo uno.....	5
Metodología.....	5
1.1 Área de estudio	5
1.2 Material biológico.....	5
1.3 Medio de cultivo	6
1.4 Métodos de desinfección.....	6
1.4.1 <i>Pre-desinfección</i>	6
1.4.2 <i>Desinfección de brotes e introducción in vitro</i>	7
1.5 Variables evaluadas.....	8
1.6 Tinciones para determinar contaminantes.....	8
1.7 Análisis de datos.....	8
Capítulo dos	9
Resultados	9
2.1 Contaminación	9
2.2 Descripción de contaminantes	13
2.3 Presencia de Hojas	14
2.4 Presencia de Raíces.....	21
Capítulo tres.....	22

Discusiones.....	22
3.1 Contaminacion en cultivos <i>in vitro</i>	22
3.2 Desinfectantes.....	23
3.3 Uso de PPM en cultivos <i>in vitro</i>	24
3.4 Crecimiento <i>in vitro</i> de cultivares de papa.....	25
Conclusiones	26
Recomendaciones	27
Referencias	28

Índice de tablas

Tabla 1 Muestreo de <i>Solanum phureja</i> en la provincia de Cañar	5
Tabla 2 Tratamientos para la introducción <i>in vitro</i> de los cultivares chaucha tomate y chaucha rosada.....	7
Tabla 3 Valor P del ANOVA para los cultivares de chaucha	9
Tabla 4 Principales contaminantes en la introduccion <i>in vitro</i>	13
Tabla 5 Promedio de crecimiento de hojas para chaucha tomate.....	16
Tabla 6 Promedio de crecimiento de hojas para chaucha rosada.....	18

Índice de figuras

Figura 1 Cultivares elegidos de <i>Solanum phureja</i>	5
Figura 2 Porcentaje de contaminación fúngica y bacteriana en la introducción del cultivar chaucha tomate.....	11
Figura 3 Porcentaje de contaminación fúngica y bacteriana en la introducción del cultivar chaucha rosada.....	12
Figura 4 Totalidades de vitroplantas de los cultivares de chaucha	15
Figura 5 Duncan comparativo de los tratamientos con respecto a su crecimiento para el cultivar de chaucha tomate.....	17
Figura 6 Duncan comparativo de los tratamientos con respecto a su crecimiento para el cultivar de chaucha rosada.....	20

Resumen

La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo alimenticio básico y de gran importancia económica a nivel mundial. Los cultivares nativos de papa en Ecuador se clasifican dentro de la especie *S. tuberosum* sbs. *andigena* y *S. phureja*. Este estudio se enfocó en la introducción *in vitro* de los cultivares chaucha tomate y chaucha rosada, de la especie *S. phureja*, originarios de la Sierra Sur del Ecuador, con fines de conservación. Se identificó que el tratamiento 27 es el más apropiado para chaucha tomate con una predesinfección con propiconazole durante una inmersión de 3 horas utilizando un medio de 0.3 PPM + Coco. Mientras que para chaucha rosada, el tratamiento 17 con una predesinfección con agua durante 3 horas y un medio con 0.5 PPM, fue más eficiente. Cabe decir que la introducción *in vitro* presentó desafíos en tanto a su adaptación, contaminación y desarrollo de los cultivares. Este trabajo contribuye a la conservación y producción de semilla certificada, clave para mitigar la degradación causada por plagas y enfermedades que amenazan la preservación y productividad de estos cultivares.

Palabras clave: Cultivo *in vitro*, Plant Preservative Mixture (PPM), cultivares nativos.

Abstract

Potato (*Solanum tuberosum*) is a staple food crop of great economic importance worldwide. Native potato cultivars in Ecuador are classified within the species *S. tuberosum* sbs. *andigena* and *S. phureja*. This study focused on the *in vitro* introduction of the cultivars *chaucha tomate* and *chaucha rosada*, of the species *S. phureja*, native to the southern highlands of Ecuador, for conservation purposes. It was identified that treatment 27 is the most appropriate for tomato bean with a pre-infection with propiconazole during a 3 hour immersion using a medium of 0.3 PPM + coconut. While for pink string bean, treatment 17 with a pre-disinfection with water for 3 hours and 0.5 PPM medium was more efficient. It should be noted that *in vitro* introduction presented challenges in terms of adaptation, contamination and cultivar development. This work contributes to the conservation and production of certified seed, key to mitigate the degradation caused by pests and diseases that threaten the preservation and productivity of these cultivars.

Keywords: *In vitro* cultivation, Plant Preservative Mixture (PPM), Native cultivars.

Introducción

El Ecuador presenta una diversidad extraordinaria de cultivares de papa dentro de las especies *Solanum tuberosum* subs. andigena y *S. phureja* (Estrada Ramos, 2000) con más de 550 variedades nativas y 17 especies silvestres, constituyendo una valiosa reserva genética adaptada a una variedad de entornos y condiciones de estrés (Calliope et al., 2018; Cuesta et al., 2022). Esta diversidad genética ofrece oportunidades significativas para su mejoramiento genético por lo que es importante implementar estrategias para su conservación (Cuesta et al., 2022; Mejía-Muñoz et al., 2006; Mora et al., 2022).

A nivel de toda la sierra ecuatoriana, norte, centro y sur, existe cultivos de papa (Torres et al., s.f.). Las diferencias agroecológicas entre estas zonas están determinadas por la interacción entre clima, fisiografía y altitud, no por su latitud. Sin embargo, en la zona sur la presencia de bajas precipitaciones afecta la producción de papa, siendo su cultivo catalogado como de menor importancia (Pumisacho & Sherwood, 2002).

A pesar de esta situación local, la papa tiene gran importancia a nivel mundial, siendo uno de los cultivos más destacados tanto en la producción agrícola como en la seguridad alimentaria. Según la FAO, se cultiva en los continentes de Asia, Europa y América (Xhulaj & Gixhari, 2018). De esta manera, representa uno de los cultivos básicos para la alimentación por lo que ha generado un interés constante en la aplicación de diferentes técnicas de biotecnología vegetal, para mejorar su producción, calidad y como una alternativa a los métodos de producción convencional de papa. La propagación de la papa se puede dar de forma sexual a través de semillas botánicas o "verdaderas", como de forma asexual mediante tubérculos. Sin embargo, las técnicas de cultivo de tejidos se han convertido en medios alternativos prometedores para la propagación vegetativa de material libre de enfermedades y para la conservación a largo plazo y recuperación de cultivares de papa (Fadaladeen et al., 2022; Mohapatra & Batra, 2017).

Entre las diversas técnicas biotecnológicas empleadas, el cultivo de tejidos vegetales surge como una herramienta para la multiplicación y conservación de variedades de papa de alto valor agronómico o genético (Gonza-Carnero et al., 2020; Pradana et al., 2021). La

micropropagación clonal, en particular, se distingue por su capacidad para producir plantas genéticamente idénticas, uniformes y libres de enfermedades (Moreno & Oropeza, 2017; Vinterhalter et al., 2008). La propagación clonal *in vitro* es un método efectivo que supera los métodos tradicionales de reproducción y fitomejoramiento, tanto por su velocidad como por su eficiencia (Valderrama Romero et al., 2018).

Sin embargo, todas las especies propagadas vegetativamente pueden presentar síntomas de enfermedades sistémicas durante su desarrollo, lo que, si no se trata adecuadamente, puede resultar en la pérdida de las plantas (Mejía-Muñoz et al., 2006). Para ello, se utilizan varias técnicas de desinfección de explantes, entre las más utilizadas incluyen un proceso de doble desinfección: con etanol e hipoclorito de sodio (Montesinos et al., 2023). Asimismo, se ha empleado una mezcla de conservantes para plantas en los medios de cultivo, como el Plant Preservative Mixture (PPM™) desarrollado por Plant Cell Technology, que es un biocida de amplio espectro eficaz para controlar la contaminación microbiana proveniente del aire, agua o de fuentes endógenas en el cultivo de tejidos vegetales (Plant Cell Technology, s. f.). En este contexto, implementar un pretratamiento de desinfección emerge como medida eficiente para mitigar el riesgo de contaminación y mejorar la vitalidad del tejido (Pérez-Álvarez et al., 2016a). Es importante señalar que los contaminantes más comunes en los sistemas de cultivo *in vitro* son los hongos, bacterias y levaduras, al igual que virus, viroides y microartrópodos (Hernández & E. González, 2010).

El objetivo del presente trabajo es establecer un protocolo de introducción al cultivo *in vitro* de dos cultivares de papa nativa de la Sierra Sur del Ecuador. Para ello, se utilizarán pretratamientos destinados a mejorar la sanidad de los explantos.

Capítulo uno

Metodología

1.1 Área de estudio

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal y Ambiental de la Universidad Técnica Particular de Loja durante los meses Febrero a Octubre del año 2024.

Los tubérculos semilla fueron recolectados por personal Banco de Germoplasma de la Universidad Técnica Particular de Loja (BG_UTPL) (Tabla 1). Posteriormente, los tubérculos se almacenaron a temperatura ambiente hasta su brotación y posterior introducción *in vitro*.

Tabla 1

Muestreo de Solanum phureja en la provincia de Cañar

Codigo de Banco	Especie	Nombre común	Sector
UTPL_BG_016_CÑ	S. phureja	Chaucha rosada	Chorocopte
UTPL_BG_017_CÑ	S. phureja	Chaucha tomate	Chorocopte

1.2 Material biológico

Al existir una amplia diversidad de cultivares nativos de papa en la región Sur del Ecuador, se seleccionaron dos cultivares de *S. phureja* (Figura 1) las cuales tienen importancia comercial sobre todo en Cañar, Azuay y Loja.

Figura 1

Cultivares elegidos de Solanum phureja



Nota. **A** Chaucha tomate. **B** Chaucha rosada

1.3 Medio de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog – MS (1962) al 100% (43,3g/L) como medio de cultivo standard. Este medio es utilizado por el Centro Internacional de la Papa (CIP) (Vollmer et al., 2020) para la propagación de explantos de papa. Al MS se le adicionaron diferentes concentraciones: 0; 0.3; 0.5; 1 ml/L del antibiótico Plant Preservative Mixture (PPM), un biocida de amplio espectro usado para el cultivo de tejidos vegetales. Adicionalmente se hizo una prueba adicionando 0.3ml/L de PPM más 200ml/L de agua de coco, obteniendo en total cinco medios de cultivo (Tabla 2). Por cada litro de medio MS se usó 4g de phytigel., 25g de sacarosa, 10ml de las siguientes vitaminas: Myoinositol, tiamina, ácido nicotínico y piridoxina; y también se usó 1ml de ácido giberélico en todos los medios, a excepción de los medios que estuvieron con el agua de coco. Todos los medios se mantuvieron a un pH 5.80 \pm 0.02.

1.4 Métodos de desinfección

En experimentos previos se determinó un alto grado de contaminación endógena en los tubérculos por lo que se decidió realizar el un proceso de desinfección en dos pasos detallados a continuación previa a su introducción *in vitro*.

1.4.1 Predesinfección

En el primero proceso de desinfección se utilizaron brotes que incluían una pequeña porción del tubérculo, con el objetivo de minimizar el contacto directo de los brotes con el medio ambiente. Se aplicaron dos tratamientos de desinfección con dos tiempos de inmersión cada uno:

Yodo: se utilizó el producto comercial yodo total 12® (Yodo povidona 12%) Favetex diluido a una concentración del 2%. El yodo se aplicó en dos tiempos de exposición: 3 y 12 horas.

Aval / Propiconazole: se utilizó el antifúngico aval, formulado por Anhui Fengle Agrochemical, CO., LTD y distribuido por Agrosad. A concentración del 1% se expuso a los tubérculos por 3 y 12 horas.

Control: Como tratamiento control se lavaron los tubérculos con agua destilada por períodos de 3 y 12 horas, sin aplicar ningún desinfectante.

A continuación, se siguió un protocolo estándar de desinfección *in vitro*.

1.4.2 Desinfección de brotes e introducción *in vitro*

Una vez completada la primera desinfección, se procedió a una segunda desinfección. Los brotes fueron extraídos eliminando la porción de tubérculo conectada a ellos y se colocaron en tubos Falcon estériles de 50 ml. Seguidamente, se realizó un lavado inicial con una solución jabonosa utilizando Lavavajillas Ozz Neutro (3785 ml) de la marca Unilimpia, bajo agitación constante durante 30 minutos. Luego, se enjuagaron con agua destilada para eliminar completamente los restos de jabón. A continuación, en una cámara de flujo laminar se sumergieron los brotes en etanol (C₂H₆O) al 70% durante 1 minuto. Luego, se enjuagaron en agua destilada estéril y se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 15 minutos. Finalmente, se enjuagó por tres ocasiones y se procedió a la siembra en el medio MS (Tabla 2).

De cada cultivar se utilizaron 10 brotes por tratamiento y se sembraron de forma separada en tubos de ensayo de 16 x 150 mm. Los explantes sembrados se mantuvieron en cuartos de cultivo climatizados. Estos cuartos se configuraron con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, manteniendo una temperatura constante de 22 °C.

Tabla 2

Tratamientos para la introducción in vitro de los cultivares chaucha tomate y chaucha rosada

Desinfectante	Horas de Inmersión	Medio de cultivo MS con adición de PPM				
		ml/L de PPM				
		0	0,3	0,5	1	0,3 + Coco
Yodo 2%	3	T1	T7	T13	T19	T25
	12	T2	T8	T14	T20	T26
Propiconazole 1%	3	T3	T9	T15	T21	T27
	12	T4	T10	T16	T22	T28
Control	3	T5	T11	T17	T23	T29
	12	T6	T12	T18	T24	T30

Nota. PPM: Plant Preservative Mixture; los números indican los ml/L adicionados al medio MS de PPM. Coco: 200ml/L. T: número del tratamiento.

1.5 Variables evaluadas

La contaminación se evaluó en un período de 30 días, con revisiones efectuadas dos veces por semana, donde se registró la presencia de contaminación bacteriana y fúngica en los explantes. El seguimiento de número de hojas se realizó durante 31 días, con anotaciones cada dos veces por semanas con el fin de registrar la presencia de hojas o el inicio de desarrollo en los explantes. Asimismo, el número de raíces se evaluó durante 30 días mediante inspecciones realizadas dos veces por semana.

Por otro lado, las plantas obtenidas a través de la introducción *in vitro* fueron analizadas utilizando el software ImageJ, siguiendo el método descrito por Schneider et al., (2012). Este análisis permitió realizar una prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Duncan, con el objetivo de determinar el vigor y la capacidad de adaptación de las plantas a los diferentes medios de cultivo.

1.6 Tinciones para determinar contaminantes

Durante el proceso de introducción del material vegetal a *in vitro*, se encontró contaminación por lo que se usó diferentes tinciones para identificar los agentes contaminantes.

En el caso de bacterias, se aplicó la tinción de Gram, la cual consiste en el uso de cristal violeta durante 1 minuto, seguido de yodo durante 1 minuto. Posteriormente, se decolora con acetona durante 10 segundos. Este proceso contribuye a la diferenciación de las bacterias según la retención del colorante, donde las bacterias gram positivas permanecen moradas, mientras que las gram negativas se tiñen de rosa.

Además, se utilizó tinción con floxina al 1% y 0.5%, así como azul de metileno para la identificación de hongos, facilitando la evaluación de la contaminación en los explantos.

1.7 Análisis de datos

Los resultados obtenidos en cada cultivar se analizaron por separado a través de un ANOVA de dos vías de acuerdo con los pretratamientos de desinfección, tiempos de inmersión y concentración de PPM en el medio de cultivo. También se utilizó estadística descriptiva para evaluar el número de hojas primarias, raíces adventicias, porcentajes de contaminación. Todo ello con el programa R.

Capítulo dos

Resultados

2.1 Contaminación

Los resultados del ANOVA de dos vías revelan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el control de la contaminación para chaucha tomate y chaucha rosada (Tabla 3). En chaucha tomate, el factor PPM desempeñó un papel crucial en las tres categorías (bacteriana, fúngica y total), dado a su efectividad en el control de microorganismos. Asimismo, la interacción entre desinfectante, tiempo de inmersión y PPM fue relevante ya que la combinación de estos tres aspectos puede optimizar el control de la contaminación.

En contraste, para chaucha rosada, el efecto del PPM tiene un impacto significativo únicamente en la contaminación fúngica y total, siendo esta más específica en comparación con chaucha tomate. Además, la interacción entre desinfectante, inmersión y inmersión, PPM mostró ser significativa exclusivamente en la contaminación total.

Esto sugiere que el PPM es relevante en ambos cultivares de chaucha y su eficacia varía según la combinación de factores y el tipo de contaminación.

Tabla 3

Valor P del ANOVA para los cultivares de chaucha

Categorías	Contaminación bacteriana	Contaminación fúngica	Contaminación total
Chaucha tomate			
Desinfectante	0.1570	0.5272	0.4255
Inmersión	0.4310	0.2828	0.1152
PPM	3.58e-06*	0.0001*	1.36e-08*
Desinfectante x Inmersión	0.1350	0.8875	0.3823
Desinfectante x PPM	4.02e-05*	0.0330*	0.1012
Desinfectante x Inmersión x PPM	0.5800	0.9176	0.7627
Desinfectante: inmersión: PPM	0.0160*	0.0124*	0.0324*
Chaucha rosada			
Desinfectante	0.1802	0.9478	0.3486
Inmersión	0.1902	0.0624	0.4515

PPM		0.2205	0.0076*	2.694e-05*
Desinfectante:		0.1802	0.1609	0.0063*
Inmersión				
Desinfectante: PPM		0.4232	0.6314	0.0917
Inmersión: PPM		0.5829	0.1470	0.0118*
Desinfectante	x	0.4232	0.7864	0.7238
inmersión xPPM				

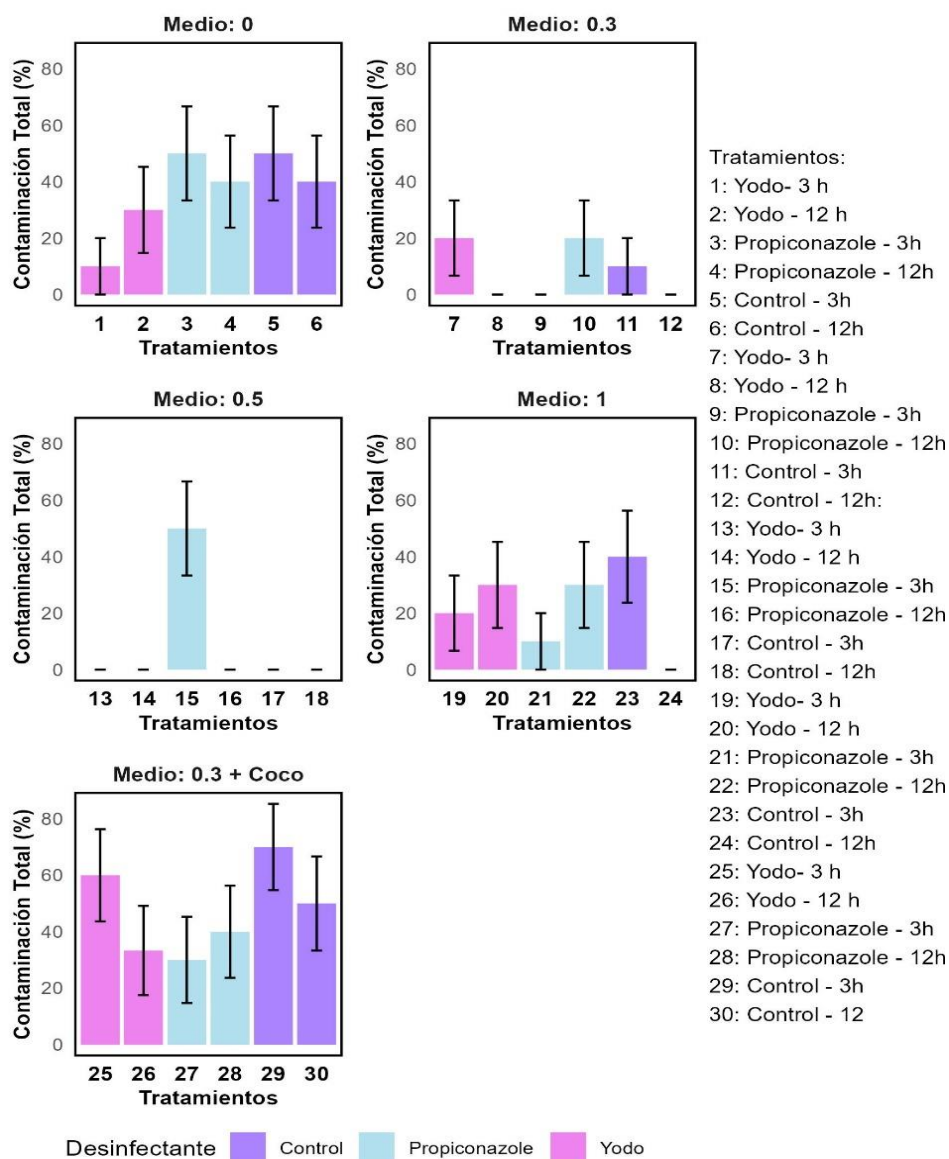
Nota. * son los valores en negrita son estadísticamente significativos

$p < 0.05$

El cultivar de chaucha tomate (Figura 2) mostró niveles variables de control de contaminación en los medios MS con diferentes concentraciones de PPM. Los medios con 0.5 y 0.3 PPM lograron disminuir los porcentajes de la contaminación en algunos tratamientos específicos. En el medio con 1 PPM, se observó contaminación en los tratamientos 19 al 23, con excepción del tratamiento 24 (control), que permaneció sin contaminación. Estos resultados resaltan que el control de la contaminación fue menos efectivo en el medio de 0.3 PPM + coco, que presentó contaminación en todos los tratamientos. Asimismo, el medio de 1 PPM mostró contaminación generalizada, salvo en el tratamiento 24.

Figura 2

Porcentaje de contaminación fúngica y bacteriana en la introducción del cultivar chaucha tomate



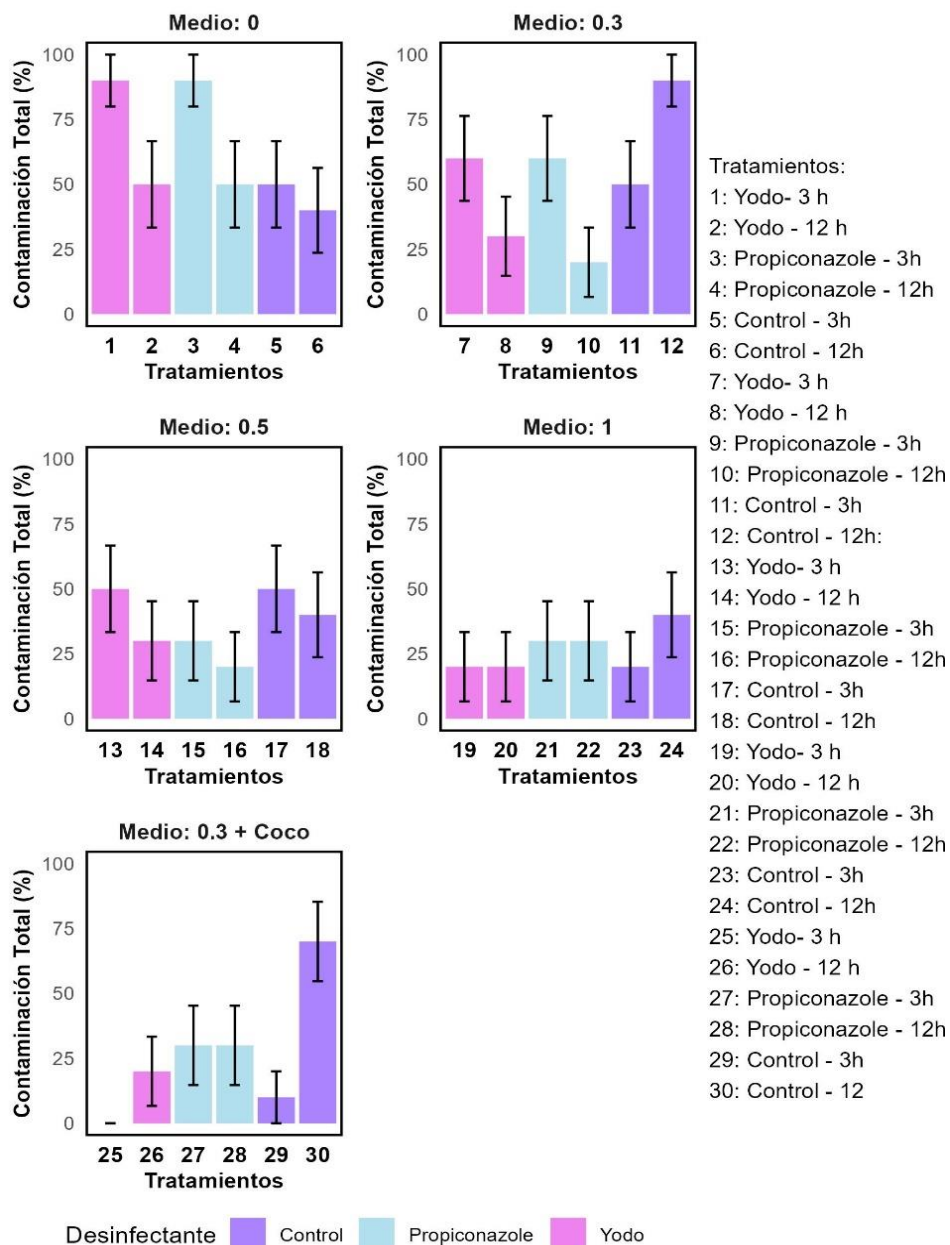
Nota. Los gráficos están organizados según los tratamientos: del 1 al 6 en un medio de cultivo 0 (Control), del 7 al 12 en un medio de 0.3 PPM, del 13 al 18 en un medio de 0.5 PPM, del 19 al 24 en un medio de 1 PPM, y del 25 al 30 en un medio de cultivo 0.3 PPM + Coco. Las barras representan el promedio de contaminación (%) y el error estándar (SE), con un tamaño de muestra de n = 10.

Para el cultivar chaucha rosada, el control de la contaminación fue limitado en la mayoría de los tratamientos (Figura 3). Sin embargo, el tratamiento 25, sometido a yodo,

destacó por ser el único que logró evitar la contaminación por completo. Los medios con 0 PPM y 0.3 PPM presentaron los mayores desafíos, ya que mostraron un control deficiente y altos porcentajes de contaminación en la mayoría de los tratamientos.

Figura 3

Porcentaje de contaminación fúngica y bacteriana en la introducción del cultivar chaucha rosada



Nota. Los gráficos están organizados según los tratamientos: del 1 al 6 en un medio de cultivo 0 (Control), del 7 al 12 en un medio de 0.3 PPM, del 13 al 18 en un medio de 0.5 PPM, del 19 al 24 en un medio



de 1 PPM, y del 25 al 30 en un medio de cultivo 0.3 PPM + Coco. Las barras representan el promedio de contaminación (%) y el error estándar (SE), con un tamaño de muestra de $n = 10$.


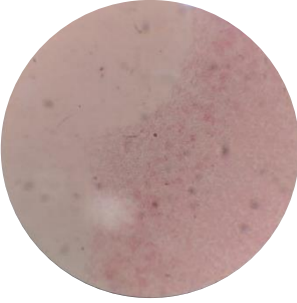
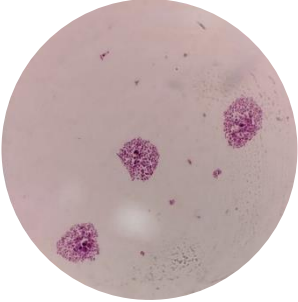
2.2 Descripción de contaminantes

El análisis determinó que los principales contaminantes en los cultivos correspondieron a los géneros de hongos *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Fusarium sp.*, junto con bacterias gram positivas y gram negativas (Tabla 4).

Tabla 4

Principales contaminantes en la introducción in vitro

Tipo de contaminación	Tinción	Fotografía
<i>Aspergillus sp</i>	phloxine al 1%	
<i>Penicillium sp.</i>	Azul de metileno	

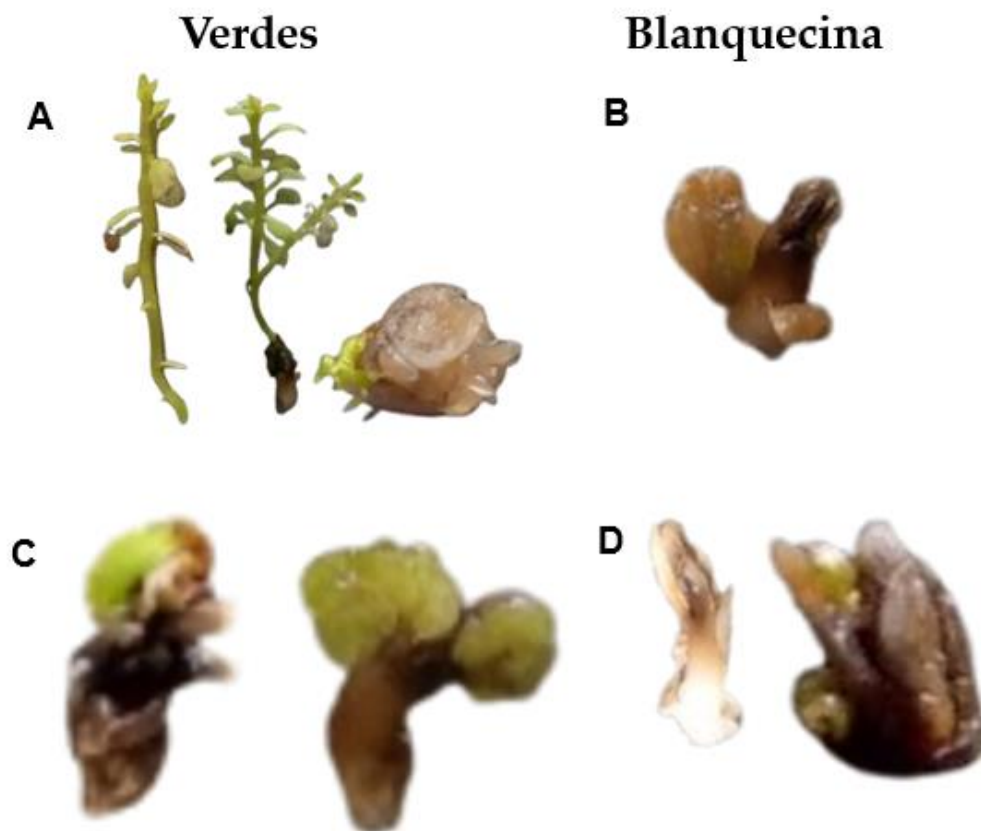
<i>Fusarium sp.</i>	Phoxine 0.5%	
Bacterias Gram negativas	Gram	
Bacterias Gram positivas	Gram	

2.3 Presencia de Hojas

Entre los tratamientos con crecimiento, las hojas presentaban una tonalidad blanquecinas o verdes (Figura 4).

Figura 4

Totalidades de vitroplantas de los cultivares de chaucha



Nota. **A** Vitroplantas de chaucha tomate con tonalidades verde, **B** Vitroplantas de chaucha tomate con tonalidad blanquecina, **C** Vitroplantas de chaucha rosada con tonalidad verde, **D** Vitroplantas de chaucha rosada con tonalidad blanquesina.

El cultivar de chaucha tomate presentó formación de hojas a partir del 6 días (Tabla 5). El mayor promedio de hojas se obtuvo en el medio con 1 PPM, independiente del desinfectante utilizado. En este aspecto, el tratamiento 20, que empleó yodo como desinfectante con un tiempo de inmersión de 12 horas, presentó el mejor resultado, alcanzando un promedio de 2 hojas hasta el último día de revisión.

Asimismo, el ANOVA realizado para evaluar las diferencias en el número de hojas por tratamiento en el día 31 entre los 16 tratamientos de plántulas que registraron hojas mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($p = 0.675$).

Tabla 5

Promedio de crecimiento de hojas para chaucha tomate

T	Desinfectante	Horas de Inmersión	Medios	Días								
				2	6	9	13	16	20	23	28	31
1	Yodo 2%	3	0 PPM	0	0	0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3
7	Yodo 2%	3		0,1	0,1	0,2	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
8	Yodo 2%	12	0,3 PPM	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
12	Control	12		0	0	0	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
13	Yodo 2%	3		0	0	0	0,2	0,4	0,7	1,0	1,3	1,4
17	Control	3	0,5 PPM	0	0	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6
18	Control	12		0	0	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
19	Yodo 2%	3		0	0	0	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
20	Yodo 2%	12		0	0,3	0,7	1,2	1,4	1,4	1,9	2	2
21	Propiconazole 1%	3	1 PPM	0	0,2	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,9	0,9
22	Propiconazole 1%	12		0	0	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
23	Control	3		0	0,2	0,5	0,6	0,7	0,9	1,1	1,2	1,2
24	Control	12		0	0,2	0,2	0,5	0,5	0,5	0,9	1,1	1,1
25	Yodo 2%	3	0,3 PPM + Coco	0	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,6	0,6
26	Yodo 2%	12		0	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1
27	Propiconazole 1%	3		0	0	0,3	0,6	0,9	0,9	1,2	1,5	1,6

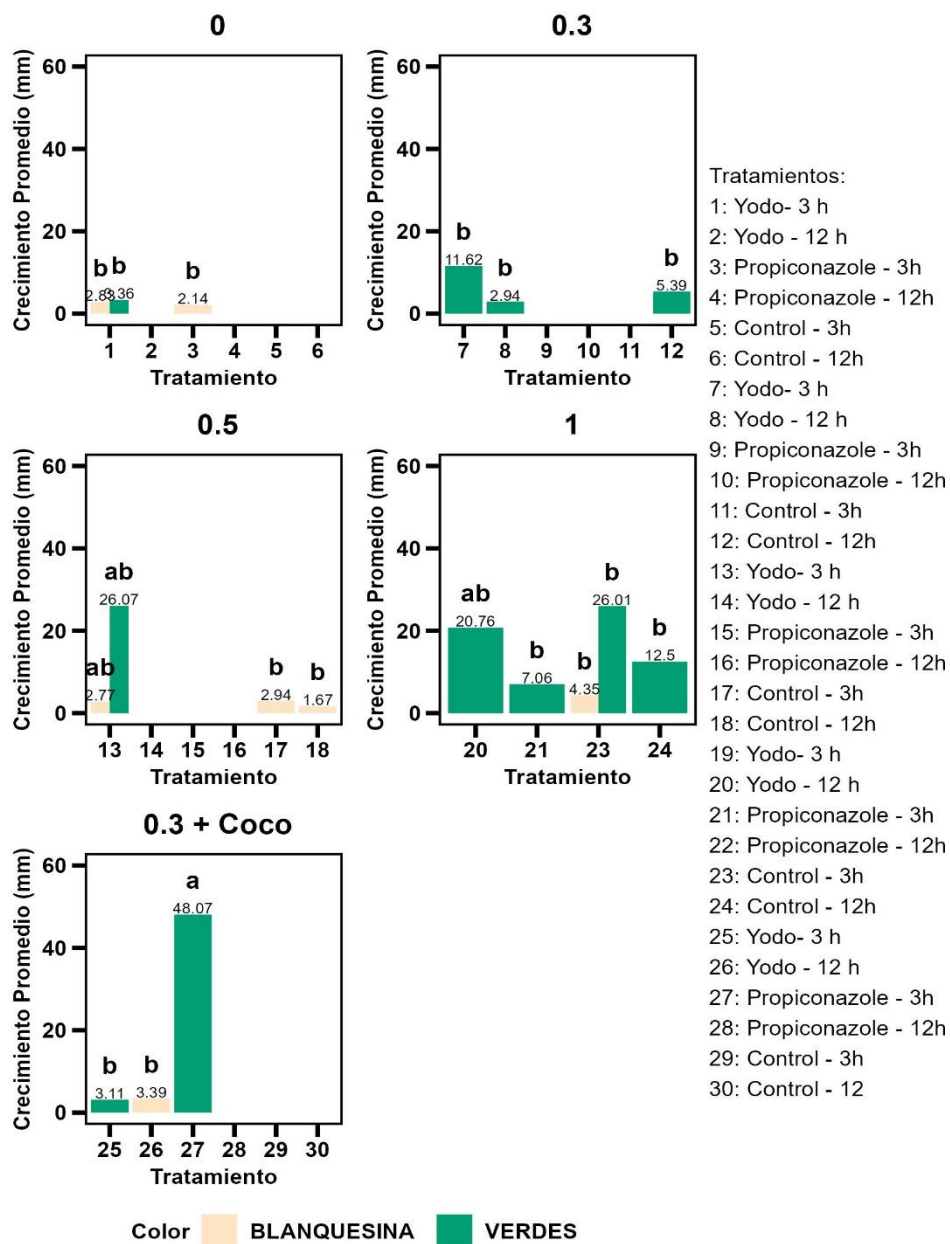
Nota.. La tabla muestra el promedio del número de hojas (n=10) entre los días 2 – 31 después de la introducción *in vitro*. Se excluyeron los tratamientos con un promedio de hojas igual a 0.

De las vitroplantas evaluadas del cultivar chaucha tomate con respecto a la formación de hojas (Figura 5), el tratamiento 27 mostró un crecimiento promedio máximo de 48.07 mm, siendo el más prometedor para su uso como protocolo *in vitro* para este cultivar. Aunque cabe decir que el tratamiento 20 presentó un mayor número de hojas al inicio, pero alcanzó solo un tamaño máximo de solo 20.76 mm, presentando así un crecimiento inconsistente. Cabe decir que los tratamientos 7, 8, 12, 21, 22 y 25 registraron también un crecimiento óptimo en general, siendo el tratamiento 8 el que presentó el menor crecimiento promedio 2.94 mm.

Con respecto a los tratamientos 3, 17, 18, 19 y 26 estos presentaron hojas blanquecinas, indicando una capacidad limitada de supervivencia a largo plazo y no son recomendables para una introducción *in vitro*. Finalmente, los tratamientos 1, 13 y 23 tuvieron un desarrollo heterogéneo, con la presencia de hojas tanto verdes como blanquecinas, lo que refleja una respuesta variable a las condiciones de cultivo.

Figura 5

Duncan comparativo de los tratamientos con respecto a su crecimiento para el cultivar de chaucha tomate



Nota. Los gráficos están organizados según los tratamientos: del 1 al 6 en un medio de cultivo 0 (Control), del 7 al 12 en un medio de 0.3 PPM, del 13 al 18 en un medio de 0.5 PPM, del 19 al 24 en un medio de 1 PPM, y del 25 al 30 en un medio de cultivo 0.3 PPM + Coco. Las barras representan el crecimiento en mm de las plántulas sobrevivientes que presentaron tonalidades verdes a blanquesinas.

En chaucha rosada se observó formación de hojas a partir de los primeros días como lo son 2, 6 y 9 (Tabla 6), donde la formación de hojas fue limitada en comparación con chaucha tomate. Destacó el medio de cultivo con 0.3 PPM + Coco, donde el tratamiento 27 alcanzó el mayor promedio de hojas, con 0.9, seguido por el tratamiento 25, que registró un promedio de 0.5 hojas.

El análisis ANOVA realizado para evaluar las diferencias en el número de hojas por tratamiento en el día 31 entre los 13 tratamientos no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$).

Tabla 6

Promedio de crecimiento de hojas para chaucha rosada

T	Desinfectante	Horas de Inmersión	Medios	Días								
				2	6	9	13	16	20	23	28	31
1	Yodo 2%	3	0 PPM	0	0	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
5	Control	3		0	0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
9	Propiconazole 1%	3	0,3 PPM	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
14	Yodo 2%	12	0,5 PPM	0	0	0	0	0	0	0,1	0,2	0,2
17	Control	3		0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
18	Control	12	1 PPM	0	0	0	0	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3
20	Yodo 2%	12		0	0	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1
22	Propiconazole 1%	12	0,3 PPM + Coco	0	0	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1
23	Control	3		0	0	0	0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3

24	Control	12		0	0	0	0	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3
25	Yodo 2%	3	0,3 PPM + Coco	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5
27	Propiconazole 1%	3		0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,6	0,9	0,9	0,9
29	Control	3		0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3

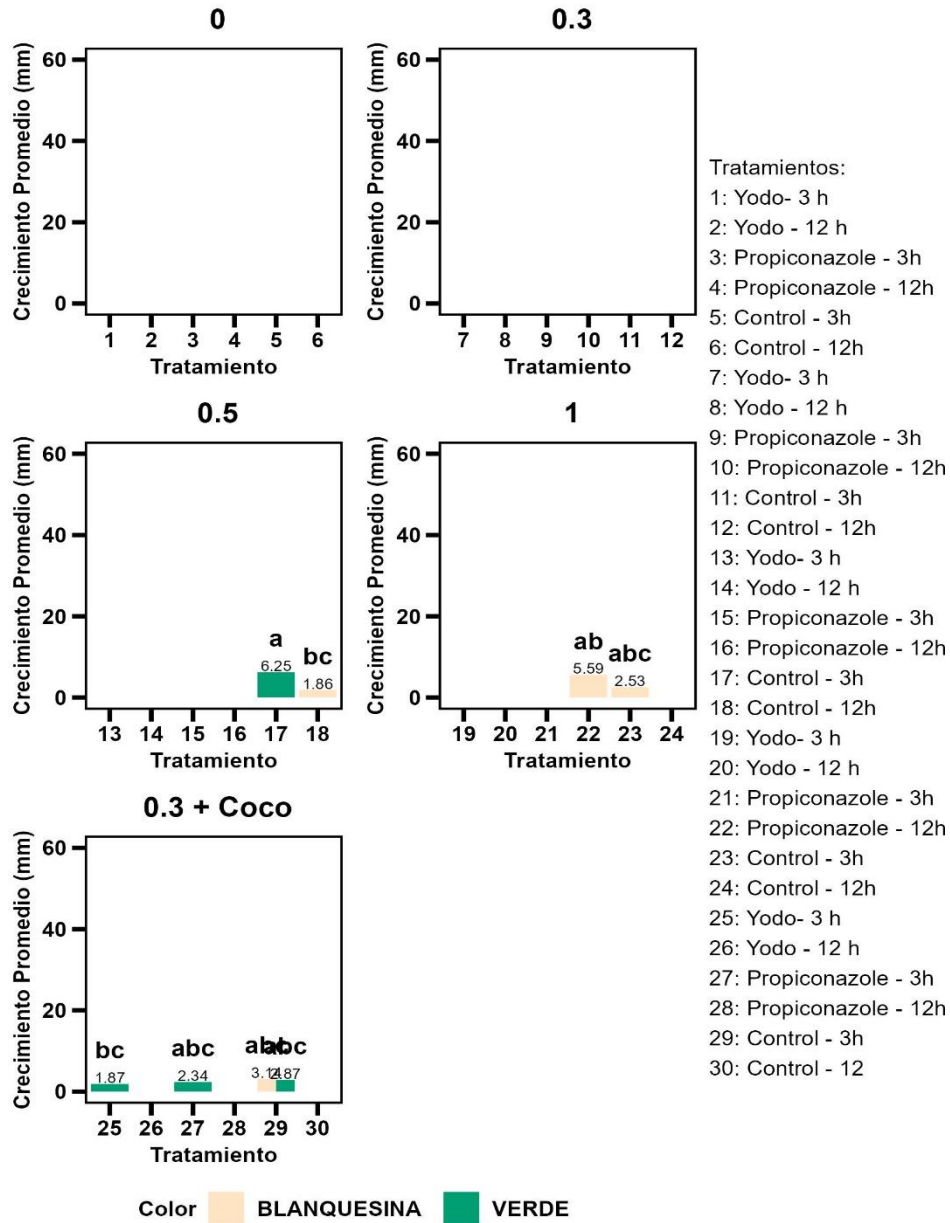
Nota. La tabla muestra el promedio del número de hojas (n=10) entre los días 2 – 31 después de la introducción *in vitro*. Se excluyeron los tratamientos con un promedio de hojas igual a 0.

Es importante resaltar que el tratamiento 25 mostró un crecimiento constante de hojas verdes, alcanzando un promedio de 0,9 hojas y un tamaño máximo de explante de 1.87 mm. Sin embargo, el tratamiento 17 aunque presentó un promedio de 0,1 hojas fue el más óptimo ya que las vitroplantas alcanzaron un crecimiento máximo de 6.25 mm, lo cual se corrobora con el análisis realizado de Duncan (Figura 6). Los tratamientos 27 y 29, presentaron un desarrollo heterogéneo, con la presencia de hojas tanto verdes como blanquecinas, lo cual indica una respuesta variable a las condiciones de cultivo.

En cambio, los tratamientos 1, 6, 9, 14, 18, 20, 22, 23 y 24 mostraron resultados menos favorables en términos de supervivencia, por lo que no se recomiendan para la introducción *in vitro* ya que sus las hojas presentaron una tonalidad blanquecina.

Figura 6

Duncan comparativo de los tratamientos con respecto a su crecimiento para el cultivar de chaucha tomate



Nota. Los gráficos están organizados según los tratamientos: del 1 al 6 en un medio de cultivo 0 (Control), del 7 al 12 en un medio de 0.3 PPM, del 13 al 18 en un medio de 0.5 PPM, del 19 al 24 en un medio de 1 PPM, y del 25 al 30 en un medio de cultivo 0.3 PPM + Coco. Las barras representan el crecimiento en mm de las plántulas sobrevivientes que presentaron tonalidades verdes a blanquesinas.

2.4 Presencia de Raíces

En ninguno de los tratamientos se observó la formación de raíces, excepto en el tratamiento 27 de chaucha tomate, que generó raíces. En este tratamiento, se registraron un total de 4 raíces hasta la última fecha de evaluación. Por otro lado, chaucha rosada no se detectó la presencia de raíces en ningún tratamiento.

Capítulo tres

Discusiones

3.1 Introducción *in vitro* de *Solanum tuberosum*

La experimentación *in vitro* de los cultivares de chaucha tomate y chaucha rosada mostró diferencias notables en su reacción a los tratamientos aplicados, lo que resalta la importancia de adaptar protocolos particulares de acuerdo a la variedad. Este descubrimiento concuerda con lo que López & Enrique, (2018) reportaron al evaluar el comportamiento de plantas de patata *in vitro* durante la etapa de multiplicación utilizando esquejes apicales, medios y basales, donde obtuvo que los esquejes apicales presentan una mayor capacidad de crecimiento inicial debido a su dominancia apical y concentración de fitohormonas naturales.

Por otro lado, el estudio de Dalleh et al., (2023) acerca de la propagación *in vitro* y microtuberización de la variedad Spunta resalta la importancia de controlar y modificar las concentraciones de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo a usar ya que en nuestro caso no solo el tipo de desinfectante, sino también la suplementación apropiada del medio, es crucial para mejorar los procedimientos de introducción *in vitro*.

Asimismo, los resultados de Nagy et al., (2023) acerca de las variedades de papa de pulpa morada brindó información acerca de variedades con pigmentos específicos las cuales presentar una reacción distinta en cuanto a crecimiento y desarrollo, debido a su composición genética y su interacción con el entorno. Además, en este trabajo de Nagy et al., (2023) se hace énfasis en la importancia de ajustar protocolos para cada especie de papa, basándose en su reacción al entorno y en las condiciones de cultivo *in vitro*. Ya que como lo demuestra este trabajo al suplementar el medio de cultivo con coco, mostró resultados prometedores al mejorar la calidad del desarrollo foliar, probablemente debido a los compuestos bioactivos y nutrientes adicionales que aporta.

3.2 Contaminación en cultivos *in vitro*

Los resultados confirman que la contaminación tanto por bacterias como por hongos representa un desafío para el éxito de la introducción *in vitro*. Tal como lo señala George &

Tripepi (2001), que la contaminación microbiana es la razón más importante de la pérdida de explantes en el cultivo de tejidos vegetales. De igual manera, Kushnarenko et al., (2022) mencionan que la principal razón de pérdida es la incapacidad de los explantes para responder a condiciones *in vitro* (44,6%), contaminación con hongos (16,9%) y bacterias (3,8%).

En relación con la contaminación fúngica, Fiers et al.,(2010) afirman que el género *Fusarium* está presente en la superficie de los tubérculos de papa y en la rizosfera de las plantas, siendo responsable de la pudrición seca cuando logra infectar al tubérculo a través de heridas. De manera similar, Pérez-Álvarez et al., (2016b) identificaron tanto a *Fusarium* y *Penicillium* como los principales hongos contaminantes en el cultivo *in vitro* de ápices de papa.

Por otro lado, aunque algunas bacterias patógenas pueden afectar negativamente a las plantas de papa, como lo mencionan CODEPA, (2023) en referencia a *Ralstonia solanacearum* (causante de la marchitez bacteriana), *Erwinia carotovora* y *Pectobacterium spp.* (responsables de la pudrición blanda), es importante destacar el rol beneficioso de las bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal. Según Longoria-Espinoza et al., (2024), estas bacterias, presentes de forma natural dentro de las plantas, pueden mejorar significativamente la salud y el rendimiento de los cultivos.

3.3 Desinfectantes

Los desinfectantes empleados en este estudio no demostraron ser determinantes en la reducción de la contaminación, sino que la concentración de PPM jugó un papel más relevante. Aunque se esperaba que los desinfectantes, debido a su actividad biológica, contribuyeran tanto al crecimiento de los explantes como a la prevención de la contaminación, los resultados no fueron consistentes en todos los casos.

El yodo, por ejemplo, es conocido por su efectividad como desinfectante frente a una amplia gama de microorganismos patógenos, incluyendo bacterias, virus, hongos, levaduras, esporas y amebas (Favetex, s. f.). De acuerdo a Yates et al., (2004) un agente a base de yodo mostró eficacia en el control del crecimiento de varios hongos fitopatógenos, entre ellos

Fusarium verticillioides. Además, Trinidad et al., (2014) mencionan que el tratamiento con yodato incrementó los niveles de nutrientes esenciales como fósforo (0,26%), hierro (50 ppm), magnesio (1402 ppm) y potasio (46,8 ppm), lo que influyó positivamente en la absorción de nutrientes.

En cuanto al fungicida Aval, cuyo principal compuesto es el propiconazole, su modo de acción se basa en la inhibición de la desmetilación, lo que interfiere con la biosíntesis de ergosterol, un componente clave en la membrana celular de los hongos (Chen, s. f.). De acuerdo a Murmu et al., (2017) en estudios de cultivos *in vitro*, el propiconazole demostró ser el tratamiento más efectivo (57,88%) en el manejo del tizón temprano de la papa, además de inhibir completamente (100%) el crecimiento radial del hongo en condiciones *in vitro*, comparado con otros fungicidas a la misma concentración (200 ppm).

3.4 Uso de PPM en cultivos *in vitro*

Las concentraciones de PPM jugaron un papel crucial en la introducción *in vitro* de las dos cultivares de papa estudiadas. Sin embargo, esta sustancia también impactó negativamente el desarrollo de raíces en los explantes. Siendo el PPM un conservante y biocida este reduce la contaminación por bacterias y hongos, y se destaca por su estabilidad incluso cuando es sometido a altas temperaturas. Dado a las indicaciones de Plan cell technology la concentración recomendada para reducir o eliminar la contaminación en los medios de cultivo varía entre 0,5 y 1,0 mL·L⁻¹ de acuerdo a la especie que se estudie (TCKleanLab, s. f.).

Siendo así que el efecto del PPM sobre los procesos metabólicos y transporte de las plantas interfiere la capacidad de formación de raíces adventicias en ciertos explantes como en el caso para los cultivares de papa. Esto concuerda con lo mencionado por George & Tripepi, (2001) que en su estudio el uso de PPM resultó en una disminución significativa de la capacidad regenerativa de los explantes de crisantemo donde el PPM actuó efectivamente en la disminución de la contaminación, pero limitó el crecimiento y desarrollo de las raíces en los explante.

3.5 Crecimiento *in vitro* de cultivares de papa

Los cultivares de papa expuesto a un medio de cultivo con sales MS al 100% mostró un impacto negativo en el desarrollo de vitroplántulas, ya que presento clorosis en las hojas adquiriendo así una tonalidad blanquecina. Siendo así, necesario el control o modificación de las concentraciones de nutrientes en el medio de cultivo. Así como lo afirma Lázaro et al., (2021) donde destaca la relevancia de determinar adecuadamente las concentraciones de sales basales, vitaminas, fuentes de sacarosa, e incluso la adición de reguladores de crecimiento en algunos genotipos específicos. En su estudio, el uso de una concentración reducida de sales (al 50%) permitió un crecimiento uniforme de brotes y un mayor número de nudos, lo que favoreció la fase de multiplicación de los explantes.

Asimismo Correa Mora et al., (2022) mencionan que el estado fisiológico y la posición de los brotes en relación con el ápice pueden influir en la respuesta morfológica de los explantes en condiciones *in vitro*. Estos factores deben ser cuidadosamente considerados para optimizar el desarrollo y la regeneración de las plántulas durante el cultivo *in vitro* de papa.

Conclusiones

La introducción *in vitro* de los cultivares chaucha tomate y chaucha rosada mostraron diferentes respuestas y adaptaciones a las predesinfecciones y medios de cultivo, sugiriendo protocolos específicos para cada una de ellas.

En chaucha tomate, el tratamiento más efectivo fue el número 27, que utilizó como predesinfección propiconazole con una inmersión de 3 horas y se sembró en un medio de cultivo con 0,3 PPM + Coco.

Para el cultivar chaucha rosada, el tratamiento más eficiente fue el número 17, que utilizó una predesinfección con agua durante 3 horas de inmersión y se sembró en un medio de cultivo que contenía 0.5 PPM.

Cabe destacar que la concentración de PPM tuvo un impacto más significativo en la reducción de la contaminación que el tipo de desinfectante empleado, como propiconazole y yodo.

Recomendaciones

Aplicar el uso de reguladores en el medio de cultivo, especialmente citoquininas como el BAP (6-bencilaminopurina), en el medio de cultivo. Estos compuestos han demostrado ser esenciales para iniciar la inducción de brotes en diversas especies y podrían mejorar significativamente el éxito de la introducción *in vitro*. Además, combinar con algunas auxinas para lograr el crecimiento y producción de raíces

Se recomienda emplear un medio con un 50% de la concentración de sales MS, ya que la exposición a niveles elevados de sales puede causar clorosis en los explantes, manifestándose en un color blanquecino en las plántulas. Esta reducción en la concentración de sales ayudará a optimizar el crecimiento y desarrollo de las plántulas en condiciones *in vitro*.

Realizar más pruebas respecto al tiempo óptimo de inmersión en desinfectantes para cada cultivar ya que podría resultar en una menor contaminación y un mejor desarrollo de los explantes.

Evaluar distintos métodos de esterilización de los materiales de cultivo (por ejemplo, autoclave, desinfección química) para determinar cuál es el más efectivo en reducir la carga microbiana sin afectar la viabilidad de los explantes.

Referencias

- Calliope, S. R., Lobo, M. O., & Sammán, N. C. (2018). Biodiversity of Andean potatoes: Morphological, nutritional and functional characterization. *Food Chemistry*, 238, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.074>
- Chen, L. (s. f.). *¿Cuáles son las propiedades y el uso del propiconazol?* Recuperado 28 de julio de 2024, de <https://es.agrogreat.com/What-Are-The-Properties-And-Usage-of-Propiconazole.html>
- CODEPA. (2023, junio 27). *Bacterias en la papa*. CODEPA. <https://codepa.mx/blog/bacterias-en-la-papa/>
- Correa Mora, L. Y., Galvis Tarazona, D. Y., Bohórquez Quintero, M. de los A., Araque Barrera, E. J., Urquijo Ruíz, J. S., Arias Moreno, D. M., & Ojeda Pérez, aida Z. (2022). Impact of initial explants on in vitro propagation of native potato (*Solanum tuberosum*, Andigena group). *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 150, 627-636. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02317-1>
- Cuesta, X., Monteros, C., Racines, M., & Rivadeneira, J. (2022). *Catálogo de variedades de papa del Ecuador* (segunda, 1-427). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Dalleh, M., Borjac, J., Younes, G., Choueiri, E., Chehade, A., & Elbitar, A. (2023). In vitro propagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) Spunta variety in Lebanon. *Advances in Horticultural Science*, 37(3), 243-253. <https://doi.org/10.36253/ahsc-13895>
- Estrada Ramos, N. (2000). *La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa*. Plural editores.
- Fadaladeen, L. H., Toma, R. S., Saheen, A. A., & Ahmed, H. B. (2022). A Rapid Micropropagation Protocol for Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Via Tissue Culture Technique. *Diyala Agricultural Sciences Journal*, 14(1), 31-39. <https://doi.org/10.52951/dasj.22140104>
- Favetex. (s. f.). *Yodo Total—12*. Yodo Total -12. favetex.com/producto/yodo-total-12/

- Fiers, M., Chatot, C., Edel-Hermann, V., Le Hingrat, Y., Konate, A. Y., Gautheron, N., Guillery, E., Alabouvette, C., & Steinberg, C. (2010). Diversity of microorganisms associated with atypical superficial blemishes of potato tubers and pathogenicity assessment. *European Journal of Plant Pathology*, 128(3), 353-371. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9657-2>
- George, M. W., & Tripepi, R. R. (2001). Plant Preservative Mixture™ Can Affect Shoot Regeneration from Leaf Explants of Chrysanthemum, European Birch, and Rhododendron. *HortScience*, 36(4), 768-769. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.36.4.768>
- Gonza-Carnero, K. A., López-Medina, S. E., Gil Rivero, A. E., Mostacero-León, J., López-Zabaleta, A., De La Cruz-Castillo, A. J., & Villena Zapata, L. (2020). Enraizamiento de esquejes de tallo juvenil de *Solanum tuberosum* L. var. Yungay mediante la aplicación del ácido 2,4-diclorofenoxiacético. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1-10. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1604
- Hernández, Y., & E. González, Dra. C. M. (2010). Efecto de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento In Vitro de frutales perennes. *Cultivos Tropicales*, 31(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400015
- Kushnarenko, S., Aralbayeva, M., Rymkhanova, N., & Reed, B. M. (2022). Initiation pretreatment with Plant Preservative Mixture™ increases the percentage of aseptic walnut shoots. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 58(6), 964-971. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10279-4>
- Lázaro, A. J. P., Amasifuen, A. D. H., & Pillasca, H. B. D. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento in vitro de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja). *Manglar*, 18(2), Article 2. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.016>
- Longoria-Espinoza, R. M., Leyva-Ruiz, C., Zamudio-Aguilasocho, G. M., & Félix-Gastélum, R. (2024). Caracterización de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal en

- plantas de papa (*Solanum tuberosum*). *Mexican Journal of Phytopathology*, 42(2), 10. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2310-4>
- López, Z., & Enrique, V. (2018). *COMPORTAMIENTO DE VITROPLANTAS DE PAPA, EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN, A PARTIR DE ESQUEJES APICALES, MEDIOS Y BASALES*. 3(5), 1-6.
- Mejía-Muñoz, J. M., González-Castillo, S., Mora-Aguilar, R., & Rodríguez-Pérez, J. E. (2006). Propagación in vitro de papa ratona (*Oxalis tuberosa* Mol). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XII(2), 231-237. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2005.06.029>
- Mohapatra, P. P., & Batra, V. K. (2017). Tissue Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.): A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 489-495. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.058>
- Montesinos, A. R. H., Pérez, J. J. P., Cruz, A. A., Villafranca, M. H., & García, R. S. H. (2023). Evaluation of the effect of disinfection of Cuba CT-115 grass explants with sodium hypochlorite. Technical note Evaluación del efecto de la desinfección de explantes del pasto Cuba CT-115 con hipoclorito de sodio. Nota técnica. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 57.
- Mora, L. Y. C., Tarazona, D. Y. G., Bohórquez Quintero, M. D. L. A., Barrera, E. J. A., Ruíz, J. S. U., Moreno, D. M. A., & Pérez, Z. Z. O. (2022). Impact of initial explants on in vitro propagation of native potato (*Solanum tuberosum*, Andigena group). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 150(3), 627-636. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02317-1>
- Moreno, M., & Oropeza, M. (2017). Efecto de las hormonas vegetales y el fotoperiodo en la producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIX(2), 25-34.
- Murmu, S., Dey, S., & Chakraborty, A. (2017). Efficacy of different fungicides for management of early blight disease of potato. *Journal of Applied and Natural Science*, 9(1), 280-285. <https://doi.org/10.31018/jans.v9i1.1184>

- Nagy, A. M., Oros, P., Cătană, C., Antofie, M. M., & Sand, C. S. (2023). In Vitro Cultivation of Purple-Fleshed Potato Varieties: Insights into Their Growth and Development. *Horticulturae*, 9(4), 425. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040425>
- Pérez-Álvarez, S., Leyva-López, N. E., Magallanes-Tapia, M. A., Arce-Leal, A. P., & Méndez-Guerrero, A. (2016a). Hongos contaminantes en el establecimiento in vitro de ápices de papa. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 84-88. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26063.69284>
- Pérez-Álvarez, S., Leyva-López, N. E., Magallanes-Tapia, M. A., Arce-Leal, A. P., & Méndez-Guerrero, A. (2016b). Hongos contaminantes en el establecimiento in vitro de ápices de papa. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 84-88. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26063.69284>
- Plant Cell Technology. (s. f.). *Plant Preservative Mixture (PPM™)*. Plant Cell Technology. Recuperado 13 de diciembre de 2024, de <https://plantcelltechnology.com/products/plant-preservative-mixture-ppm>
- Pradana, O., Maulida, D., & Andini, S. (2021). Micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) var. Atlantic on various culture media composition. *International Conference on Agriculture and Applied Science*. <https://doi.org/10.25181/icoaas.v1i1.2006>
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *El cultivo de la papa en Ecuador* (2002.^a ed.). INIAP-CIP.
- Schneider, C., Rasband, W., & Eliceiri, K. (2012). *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis | Nature Methods*. 9, 671-675.
- TCKleanLab. (s. f.). Plant Preservative Mixture (PPM™). *Plant Preservative Mixture*. Recuperado 29 de julio de 2024, de <https://www.tckleanlab.com/plant-preservative-mixture-ppm/>
- Torres, L., Cuesta, X., Monteros, C., & Rivadeneira, J. (s.f.). *Variedades de papa*. Inventario de tecnologías e información para el cultivo de papa en el Ecuador.

<https://cipotato.org/papaenecuador/variedades-de-papa/#1507782251394-3656907b-85ec>

- Trinidad, H., Osuna, G., Benavides Mendoza, A., Rivas Morales, C., Morales Rubio, E., Verde Star, J., Miranda Ruvalcaba, R., & Leon, N. (2014). Iodine application increased ascorbic acid content and modified the vascular tissue in opuntia ficus-indica L. *Pakistan Journal of Botany*, 46(1), 127-134.
- Valderrama Romero, A. S., Abril Porras, V. H., Reyes Matamoros, J., Fernández Herrera, Y. F., Acuña Azarte, G., Condori Jerillo, M. R., Huamán Coaquira, F. L., Vélez Chang, Y. J., & Legua Cárdenas, J. A. (2018). Propagación clonal in vitro de especies y variedades de papa (solanum spp.) en función del tiempo. *Big Bang Faustiniiano*, 7(4). <https://doi.org/10.51431/bbf.v7i4.495>
- Vinterhalter, D., Dragiüeviü, I., & Vinterhalter, B. (2008). Potato in Vitro Culture Techniques and Biotechnology. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, Special Issue 1*, 16-45.
- Vollmer, R., Panta, A., Solis, R., Manrique, N., & Anglin, N. L. (2020). *Genebank - propagacion in vitro de papa y camote*. CIP – SOP056. <https://cgspace.cgiar.org/items/84b4394e-6707-4e9f-a262-82ebfe88579a>
- Xhulaj, D., & Gixhari, B. (2018). IN VITRO MICROPROPAGATION OF POTATO (Solanum tuberosum L). CULTIVARS. *The Journal «Agriculture and Forestry»*, 64(4). <https://doi.org/10.17707/AgricultForest.64.4.12>
- Yates, I. E., Arnold, J. W., Bacon, C. W., & Hinton, D. M. (2004). In vitro assessments of diverse plant pathogenic fungi treated with a novel growth control agent. *Crop Protection*, 23(12), 1169-1176. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.03.019>