

**UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**EFFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE SALES
MURASHIGE Y SKOOG (1962) EN LA MULTIPLICACIÓN
IN VITRO DE TRES ECOTIPOS DE PAPA AMARGA
(*Solanum juzepczukii* Buck)**

Por
Roberto Butrón Ticona

EL ALTO – BOLIVIA
2013

**UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**EFFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE SALES
MURASHIGE Y SKOOG (1962) EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO*
DE TRES ECOTIPOS DE PAPA AMARGA (*Solanum juzepczukii*
Buck)**

*Tesis de Grado presentada como requisito
para optar el Título de Ingeniero en
Ingeniería Agronómica*

Roberto Butrón Ticona

Tutor:

Ing. Agr. Ph.D. Félix Marza Mamani

Tribunal revisor:

Ing. Agr. Ph.D. Víctor Hugo Mendoza

Ing. Agr. M.Sc. Wilfredo Rojas

Ing. Agr. M.Sc. Cristóbal Riquelme

.....

Aprobada

Director de Carrera:

Ing. Agr. Ph.D. Humberto Sainz Mendoza

DEDICATORIA

A Dios: por tener la oportunidad de recibir su amor, misericordia, y poder guiar en mi carrera profesional y realizar por su guía espiritual este trabajo, y al cimiento, sustento que puso en mi familia.

A mis padres: Saturnino Butrón y Rufina Ticona por su inmenso amor, esfuerzo y sacrificio infinito en todo momento de mi vida.

A mis Hermanos: Alicia, Félix, Naval, Cándida, Filemón, Raymundo e Iván. Quienes fueron mi permanente apoyo con sus incansables alientos en momentos más difíciles en toda mi carrera profesional y mi formación como persona

A mis amigos: Félix Quispe, Hersit Apaza, Adelio Mayta, Hugo Mullisaca, Edwin Guarachi, Gonzalo Tiñini, Sergio Callisaya, Raul Álvarez, Martin Quenta, Ismael Roque, Gloria Espinoza, Betty Mollisaca, Lourdes Moñocopa, Paola Siñani y Brauliana Pérez.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo: Doy gracias

A la Universidad Pública de El Alto, Carrera de Ingeniería Agronómica por la formación impartida mediante su plantel docente, en mi carrera profesional.

A mi tutor del presente trabajo de investigación Ing. Agr. Ph.D. Félix Marza, por encaminar este trabajo con su amplia experiencia profesional, con su invaluable e incondicional paciencia, amistad y afecto contribuyeron en la culminación del presente trabajo.

Agradecer al tribunal revisor Ing. Agr. Ph.D. Víctor Hugo Mendoza, Ing. Agr. M.Sc. Cristóbal Riquelme e Ing. Agr. M.Sc. Wilfredo Rojas, por las valiosas y oportunas correcciones, sugerencias en la revisión del presente trabajo.

Al Ing. Agr. Ph.D. Humberto Sainz Director de Carrera por impartir sus conocimientos y darme el apoyo incondicional e insistencia para la conclusión de mi trabajo de tesis.

Un reconocimiento particular a los docentes de especialidad con quienes tuve la oportunidad de recibir las enseñanzas en mi formación profesional.

A la Sociedad Científica de estudiantes y al módulo de investigación de la Carrera de Ingeniería Agronómica, así mismo a los investigadores y tesistas por su apoyo constante.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	9
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
<hr/>		
2.1.	El cultivo de papa	11
2.1.1.	Origen y distribución	11
2.1.2.	Taxonomía.....	13
2.1.3.	Características botánicas.....	13
2.1.3.1.	Morfología vegetativa.....	13
2.1.4.	Especies de papa amarga	15
2.1.5.	Importancia de las papas amargas	15
2.1.6.	Composición de la papa	15
2.1.7.	Extracción de nutrientes de la papa	16
2.1.8.	Ecofisiología de la papa.....	16
2.2.	Cultivos vegetales	17
2.2.1.	Micropropagación	18
2.2.2.	Cultivo de meristemos	18
2.2.3.	Medio de cultivo	19
2.2.3.1.	Salas inorgánicas.....	19
2.2.3.2.	Carbohidratos	20
2.2.3.3.	Vitaminas	20
2.3.	Análisis de Costos	20
2.3.1.	Costos	20
2.3.2.	Costos de producción	20
2.3.2.1.	Costos fijos	21
2.3.2.2.	Costos variables	21
2.3.3.	Estructura de costos en la micropropagación	21
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
<hr/>		
3.1.	Localización.....	22
3.2.	Materiales	22
3.2.1.	Material vegetal	22
3.2.2.	Equipos y materiales de laboratorio	24
3.2.2.1.	Equipos.....	24
3.2.2.2.	Material de vidrio.....	24
3.2.2.3.	Material químico.....	24
3.2.2.4.	Material metálico.....	24
3.2.2.5.	Implementos de laboratorio.....	24
3.2.2.6.	Material de desinfección	24

3.3.	Metodología.....	25
3.3.1.	Flujograma del trabajo experimental.....	25
3.3.1.1.	Esterilización del material de vidrio e instrumentos.....	25
3.3.1.2.	Preparación de medios de cultivo.....	26
3.3.1.3.	Multiplicación de vitroplantas.....	29
3.3.1.4.	Diseño experimental.....	30
3.3.2.	Variables evaluadas.....	32
3.3.2.1.	Altura de vitroplanta (AV).....	32
3.3.2.2.	Número de nudos (NN).....	32
3.3.2.3.	Número de hojas (NH).....	33
3.3.2.4.	Tamaño de hoja (TH).....	33
3.3.2.5.	Presencia de raíces (PR).....	33
3.3.2.6.	Grado de enraizamiento (GE).....	34
3.3.2.7.	Coeficiente de multiplicación (CM).....	34
3.3.2.8.	Variables económicas.....	35
3.3.3.	Análisis estadístico de las variables evaluadas.....	36
3.3.3.1.	Análisis descriptivo.....	37
3.3.3.2.	Análisis de varianza.....	37
3.3.3.3.	Prueba de medias de Duncan.....	37
3.3.3.4.	Análisis de coeficiente de correlación.....	38
3.3.3.5.	Análisis de variables categóricas.....	38
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	39
4.1.	Análisis de variables cuantitativas.....	39
4.1.1.	Análisis descriptivo.....	39
4.1.2.	Análisis de varianza.....	40
4.1.3.	Comparación de medias de Duncan.....	41
4.1.3.1.	Altura de vitroplanta.....	41
4.1.3.2.	Número de nudos.....	44
4.1.3.3.	Número de hojas.....	46
4.1.3.4.	Coeficiente de multiplicación.....	48
4.1.3.5.	Longitud de raíz.....	51
4.1.4.	Análisis de correlación simple.....	53
5.	CONCLUSIONES.....	59
6.	RECOMENDACIONES.....	60
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Extracciones de macronutrientes en el cultivo de papa obtenidas por varios autores	17
Tabla 2. Descripción de los factores y sus respectivos niveles de cada factor.	30
Tabla 3. Descripción de la combinación de los niveles de cada uno de los factores que conforman los tratamientos.	31
Tabla 4. Estadística descriptiva de tendencia central, dispersión y distribución para variables cuantificadas en el estudio de evaluación de la multiplicación <i>in vitro</i> de tres accesiones de papa amarga en cuatro concentraciones de sales MS (1962) en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA. .	39
Tabla 5. Análisis de varianza para variables componentes principales (AV; altura de vitroplanta, NN; número de nudos, NH; número de hojas, CM; coeficiente de multiplicación y LR; longitud de raíz), tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.	41
Tabla 6. Valores de los coeficientes de correlación (r) de las variables cuantitativas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de Sales de MS (1962), evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.	53
Tabla 7. Análisis de costos de las sales cuatro concentraciones de MS en tres ecotipos de papa amarga en condiciones <i>in vitro</i> realizados en el laboratorio de Biotecnología vegetal.	57
Tabla 8. Análisis económico de la aplicación de cuatro concentraciones de MS en tres ecotipos de papa amarga en condiciones <i>in vitro</i>	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de zonas productoras de papa en Bolivia (CIP, 2001)	12
Figura 2. Rendimiento de papa en Bolivia en el plazo de 1991 a 2003 (MACA, 2005). 13	
Figura 3. Morfología de la planta de papa (Huamán, 1990)	14
Figura 5. Imagen Satelital de la ubicación del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA (Google Earth, 2012).	22
Figura 6. Tubérculos de los ecotipos de papa amarga Luk'i (a), Pirinkayo (b) y Q'aysallla (c).....	23
Figura 7. Vitroplantas de los ecotipos de papa amarga Pirinkayo (a), Luk'i (b), y Q'aysallla (c)	23
Figura 8. Papa amarga en campo de los agricultores	23
Figura 9. Flujograma del procedimiento experimental	25
Figura 10. Esterilización de los materiales de vidrio	26
Figura 11. Preparación de medios de cultivo. Matraz erlemenyer con la respectiva disolución de Sales MS (a) y Adición de las soluciones stock a los Matraces de preparación de medios de cultivo (b).	27
Figura 12. Pesaje de sacarosa en la balanza analítica.....	27
Figura 13. Agitado y calentado de medio de cultivo	28
Figura 14. Sellado de tubos de ensayo para el autoclavado	28
Figura 15. Autoclavado de medio de cultivo	28
Figura 17. Multiplicación de vitroplantas.....	30
Figura 18. Altura de vitroplanta	32
Figura 19. Número de nudos.....	32
Figura 20. Número de nudos.....	33
Figura 21. Tamaño de hoja de las vitroplantas.....	33
Figura 22. Presencia de raíces (a) y ausencia de raíces de las vitroplantas (b).....	34
Figura 23. Grado de enraizamiento de las vitroplantas: ausencia de raíces (a), raíz principal desarrollado (b) y raíz principal con raíces secundarias (c).	34
Figura 24. Coeficiente de multiplicación de las vitroplantas	35
Figura 25. Comparación de media de Altura de vitroplanta de tres ecotipos de papa amarga <i>in vitro</i> , según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).	42

- Figura 26.** Comparación de media de Altura de vitroplanta de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 43
- Figura 27.** Comparación de media de Altura de vitroplanta de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 43
- Figura 28.** Comparación de media de Número de nudos de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 44
- Figura 29.** Comparación de media de Número de nudos de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 45
- Figura 31.** Comparación de media de Número de hojas de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 47
- Figura 32.** Comparación de media de Número de hojas de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 47
- Figura 33.** Comparación de media de Número de hojas de tres ecotipos de papa amarga en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 48
- Figura 34.** Comparación de Coeficiente de multiplicación de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 49
- Figura 35.** Comparación de media de coeficiente de multiplicación de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 50
- Figura 36.** Comparación de media de Coeficiente de multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 50
- Figura 37.** Comparación de media de Longitud de raíz de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 51
- Figura 38.** Comparación de media de Longitud de raíz de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 52
- Figura 39.** Comparación de media de la Longitud de raíz de tres ecotipos de papa amarga en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$). 52
- Figura 41.** Porcentaje del Grado de enraizamiento de acuerdo a la presencia de raíces de vitroplantas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS,

evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA. 55

Figura 42. Porcentaje de tamaño de hoja de acuerdo a la presencia de raíces de vitroplantas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA. 56

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los cultivos de importancia mundial ocupando en el consumo el quinto lugar y el cuarto lugar en cuanto al valor de la producción mundial, después del trigo, arroz y maíz. La producción de papa en nuestro país alcanza los 935 862 ton, en una superficie cultivada 179 407 has con rendimiento promedio para la misma gestión de 5 216 kg*ha⁻¹, de las cuales el 27%, corresponde al departamento de La Paz, donde el rendimiento promedio está por debajo del promedio nacional con 4 444 kg*ha⁻¹. Debido a la reducción de productividad de la papa amarga de la especie (*Solanum juzepzukii* Buck) en campo, las cuales están siendo remplazadas por variedades de papas comerciales a largo plazo se corre el riesgo de perder la variabilidad genética, en la multiplicación de vitroplantas en condiciones de laboratorio de esta especie, no se tiene establecido la concentración adecuada de sales en el medio de cultivo, se ha observado que con los nutrientes incorporados, el crecimiento supera el tamaño ideal. Por estas razones expuestas, se evaluaron tres ecotipos de papa amarga (*Solanum juzepzukii* Buck), Q'aysalla (Acc-04), Pirinkayo (Acc-12) y Luk'i (Acc-16) cultivadas en condiciones de *in vitro*, procedentes de cultivo de meristemos en la fase de multiplicación en tubos de ensayo en cuatro concentraciones de sales de Murashige y Skoog 1962 (MS) (25, 50, 75 y 100%). Estos fueron cultivados en 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. Fueron evaluados bajo un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial. Las variables que se registraron fueron altura de vitroplantas, número de nudos, número de hojas, coeficiente de multiplicación, longitud de raíz, tamaño de hojas, presencia de raíces y grado de enraizamiento. El ecotipo Luk'i presentó la mayor altura de vitroplantas, buen desarrollo de las hojas y altos coeficientes de multiplicación seguida de los ecotipos Q'aysalla y Pirinkayo. En la aplicación de las diferentes concentraciones de sales de MS las concentraciones al 100% y 75% favorecieron al buen desarrollo de las vitroplantas y las concentraciones de 50 y 25% presentan características menos favorables.

SUMMARY

The potato (*Solanum tuberosum*) is one of the world's important crops in consumption occupying fifth place and fourth place in the value of world after wheat, rice and corn. Potato production in our country reaches 935,862 tons, in a cultivated area 179 407 ha with average yield for the same management * 5216 kg ha⁻¹, of which 27 % is for the department of La Paz, where the average is below the national average with 4444 kg * ha⁻¹. Due to the reduced productivity of sour potato species (*Solanum juzepzukii* Buck) field, which are being replaced by commercial potato varieties in the long term there is a risk of losing genetic variability in the growth of plantlets in laboratory conditions of this species has not established the appropriate concentration of salts in the medium, it was observed that the incorporated nutrients, the growth size exceeds ideal. For these reasons, we evaluated three bitter potato ecotypes (*Solanum juzepzukii* Buck) Q'aysalla (Acc -04), Pirinkayo (Acc -12) and Luk'i (Acc- 16) grown in vitro conditions, from meristem culture in the multiplication phase in test tubes four concentrations of Murashige and Skoog 1962 (MS) (25, 50, 75 and 100 %). These were grown in 16 hours light and 8 hours of darkness. Were evaluated under a completely randomized design according bifactorial. The variables recorded were vitroplants height, number of nodes, number of leaves, multiplication rate, root length, leaf size, presence of roots and rooting degree. The Luk'i ecotype had the highest height of plantlets, good leaf development and high coefficients of multiplication followed by ecotypes Q'aysalla and Pirinkayo. In the application of different concentrations of MS salts concentrations 100% and 75 % favored the good development of the plantlets and the concentrations of 50 and 25% have less favorable characteristics.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*) es considerada como uno de los cultivos de importancia mundial ocupando en el consumo el quinto lugar y el cuarto en cuanto al valor de la producción mundial después del trigo, arroz y maíz. Es cultivada en todo tipo de ecosistemas desde las zonas más altas hasta las más bajas, tiene sus orígenes en la región del altiplano de Perú y Bolivia, sobre los 3800-4500 m.s.n.m. (Spooner *et al.*, 2005).

La producción de papa en la campaña agrícola 2007-2008 Bolivia alcanzó 935862 tn, en una superficie cultivada 179407 ha con rendimiento promedio de 5216 kg \cdot ha⁻¹, de las cuales el 27%, corresponde al departamento de La Paz, donde el rendimiento promedio está por debajo del promedio nacional con 4444 kg \cdot ha⁻¹ (INE, 2008). Del total de la superficie cultivada en Bolivia se estima que el 15% de la producción corresponde a variedades nativas de papas amargas, dichas variedades generalmente son consideradas como cultivos marginales por las familias campesinas, cuya producción es destinada en 10% a la elaboración de chuño, tunta y el restante 5% para su consumo como tubérculo fresco debido al alto contenido de glicoalcaloide que posee (Rea, 1992).

Este cultivo se propaga vegetativamente, asegurando la conservación de características varietales durante generaciones sucesivas, teniendo como desventaja que el tubérculo-semilla favorece la diseminación de enfermedades (Ávila, 2010).

La biotecnología vegetal, por medio de la micropropagación ofrece la posibilidad de producir plantas *in vitro*, en grandes cantidades genéticamente idénticas, a partir del cultivo de meristemos o yemas. Estos procesos facilitan la obtención de plantas madres libres de patógenos (Ávila, 2010).

En nuestro país se ha incursionado con la técnica de micropropagación con variedades comerciales de papa por distintas instituciones, de las cuales SEPA (Unidad de Producción de Semilla de Papa), es la referente en cuanto a la producción de vitroplantas con 422 000 plántulas *in vitro* anual de las variedades Huaycha, Sani Imilla,

Desiree y Romano (Trujillo, 2008). En cuanto a las papas de variedades amargas el IBTEN (2010), estudió la adaptabilidad de cinco variedades en diferentes medios de cultivo *in vitro*, donde el medio adecuado que seleccionaron estuvo compuesto por 0,5 mg*l⁻¹ de AG₃ (Acido giberélico) más 15% AC (Agua de coco). Sin embargo, Enríquez del Valle *et al.* (2005) realizó estudios en la Cúrcuma doméstica (*Agave angustifolia* L.), reduciendo la concentración de sales MS (Murashige y Skoog, 1962) en el medio de cultivo con cuatro niveles 25%, 50%, 75% y 100% en la fase de enraizamiento, obteniendo buenos resultados con la concentración reduciendo hasta el 75%.

Debido a la reducción de la papa amarga de la especie (*Solanum juzepzukii* Buk) la cual está siendo remplazada por variedades de papas comerciales a largo plazo, se corre el riesgo de perder la variabilidad genética, además estas especies de papa amarga presentan ventajas comparativas en zonas áridas y con climas adversos para la producción de especies comerciales, por presentar estas características son fuente potencial para realizar fitomejoramiento en especies comerciales susceptibles (heladas y secúías). En la multiplicación de vitroplantas en condiciones de laboratorio de esta especie, no se tiene establecido la concentración adecuada de sales en el medio de cultivo, se ha observado que con los nutrientes incorporados, el crecimiento supera el tamaño ideal.

Por las razones expuestas, con este trabajo de investigación se propuso aumentar la eficiencia, estableciendo un protocolo adecuado con el uso de cuatro concentraciones de sales MS, en la multiplicación de vitroplantas de 3 ecotipos promisorias de papa amarga (*Solanum juzepzukii* Buk) procedentes de la colección de germoplasma de tubérculos andinos de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la UPEA (Universidad Pública de El Alto).

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

- Evaluar el comportamiento morfológico de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.
- Identificar la concentración adecuada de sales de MS para la multiplicación de vitroplantas de papa amarga.
- Analizar los costos de producción de vitroplantas en la fase de multiplicación.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. El cultivo de papa

2.1.1. Origen y distribución

La papa se cultiva en los Andes desde hace más de 7000 años. Según investigaciones confirmadas recientemente, el origen de la papa, especie *Solanum tuberosum*, se centra en la parte norte del lago Titicaca, sur del Perú (Spooner *et al.*, 2005). Se encontraron hallazgos arqueológicos en Perú y Chile donde indican el consumo por pueblos ancestrales (Estrada, 2000).

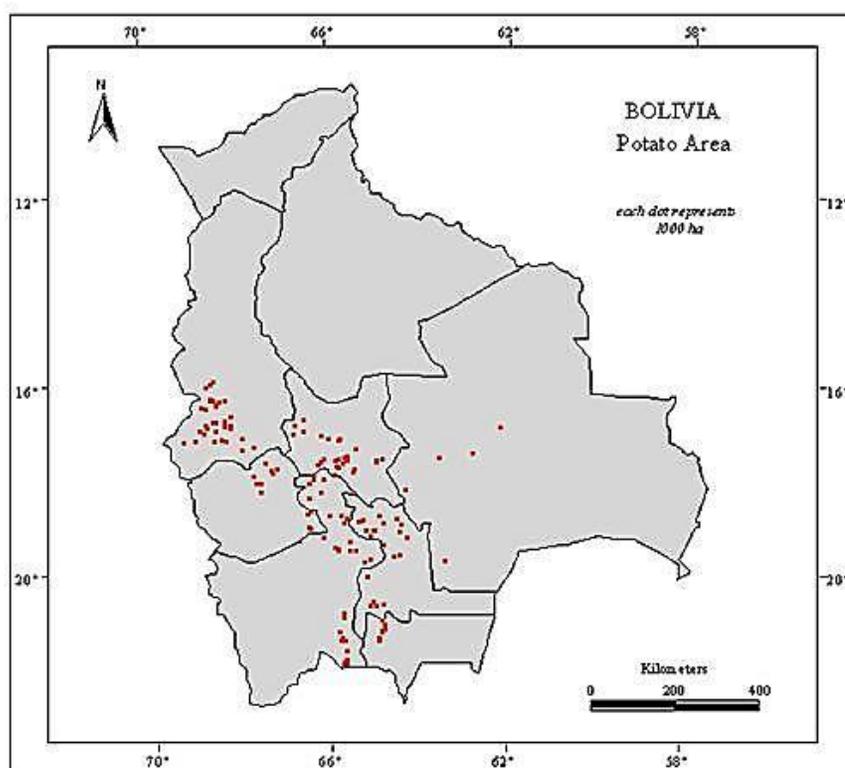


Figura 1. Distribución de zonas productoras de papa en Bolivia (CIP, 2001)

Es considerado como uno de los cultivos de importancia mundial ocupando en el consumo el quinto lugar y el cuarto en cuanto al valor de la producción mundial, después del trigo, arroz y maíz (Spooner *et al.*, 2005).

En América Latina se produce el 5.1% de la producción mundial de papa, en la región sur la producción alcanza a 13.3 millones de tn en una área sembrada de 998 mil ha y un rendimiento promedio de 13.4 tn/ha (PROINPA, 2001).

En Bolivia se cultiva en siete de los nueve departamentos, por tener climas aptos para la producción, en altitudes desde 4250 msnm, hasta 1600 msnm.(PROINPA, 2001). Alrededor de 180,000 unidades familiares de producción cultivan papa. Es decir que el 28% de los campesinos del país son productores de papa (PROINPA, 2001).

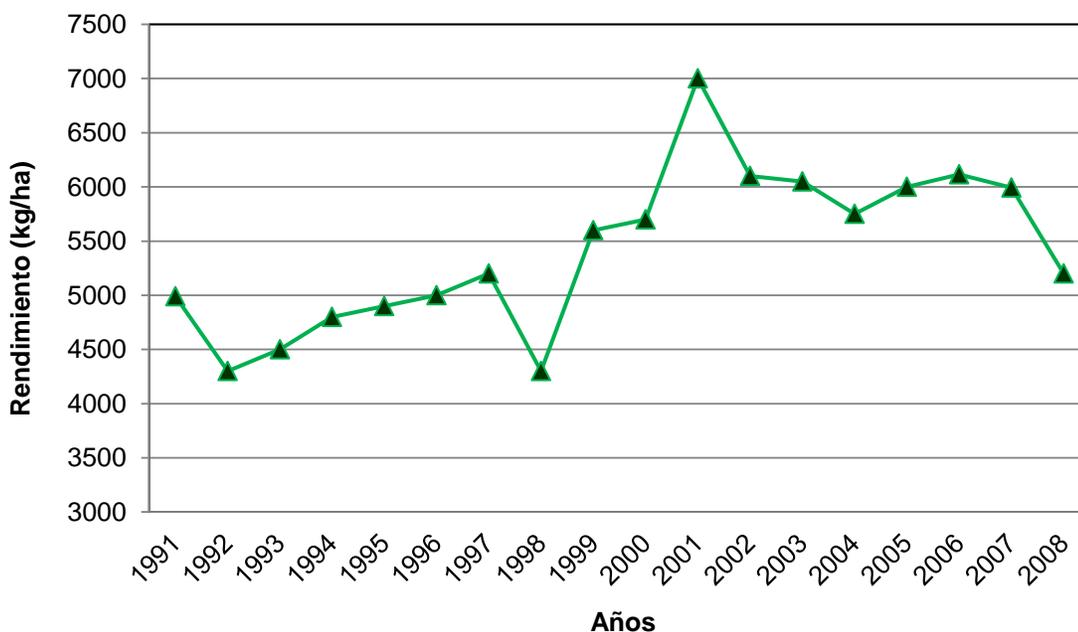


Figura 2. Rendimiento de papa en Bolivia en el plazo de 1991 a 2011 (Zeballos *et al.*, 2009; INE, 2008)

La producción de papa en la campaña agrícola 2007-2008 Bolivia alcanzó 935862 tn, en una superficie cultivada 179407 ha con rendimiento promedio de 5216 kg/ha⁻¹, (INE, 2008).

Según Huamán (1990) la "papa" tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: *Plantea*
División: *Magnoliophyta*
Clase: *Magnoliopsida*
Subclase: *Asteridae*
Orden: *Solanales*
Familia: *Solanaceae*
Género: *Solanum*
Especie: *S. tuberosum*

2.1.2. Características botánicas

2.1.2.1. Morfología vegetativa

Es una planta herbácea, dicotiledónea, provista de un sistema aéreo y otro subterráneo (Figura 3) del cual se originan los tubérculos (Tapia, 1993). La especie *juzepzukii* de papa amarga tienen un crecimiento arrositado porque las hojas se encuentran cerca de la base de los tallos cortos y están cerca del suelo.

a) Hojas

Son compuestas, imparipinnadas y con folíolos primarios, secundarios e intercalares y su nerviación de las hojas es reticulada, con una densidad mayor en los nervios y en los bordes del limbo (Tapia, 1993).

b) Inflorescencia

Son cimosas, están situadas en la extremidad del tallo y sostenidas por un escapo floral. Es una planta autógama, siendo su androesterilidad muy frecuente, a causa del aborto de los estambres o del polen según las condiciones climáticas. Las flores tienen la corola rotácea gamopétala de color blanco, rosado, violeta, etc. (Tapia, 1993).

c) Frutos

En forma de baya redondeada de color verde de 1 a 3 cm de diámetro, que se tornan amarillos al madura (Tapia, 1993).

d) Tubérculos y estolones

Son tallos modificados subterráneos de los que surgen los estolones y producen unos hinchamientos en el extremo denominados tubérculos, siendo éstos ovales o redondeados. Las cuales son comestibles, formados por tejido parenquimatoso, donde se acumulan las reservas de almidón y en las axilas del tubérculo se sitúan las yemas de crecimiento llamadas “ojos”, dispuestas en espiral sobre la superficie del tubérculo (Tapia, 1993).

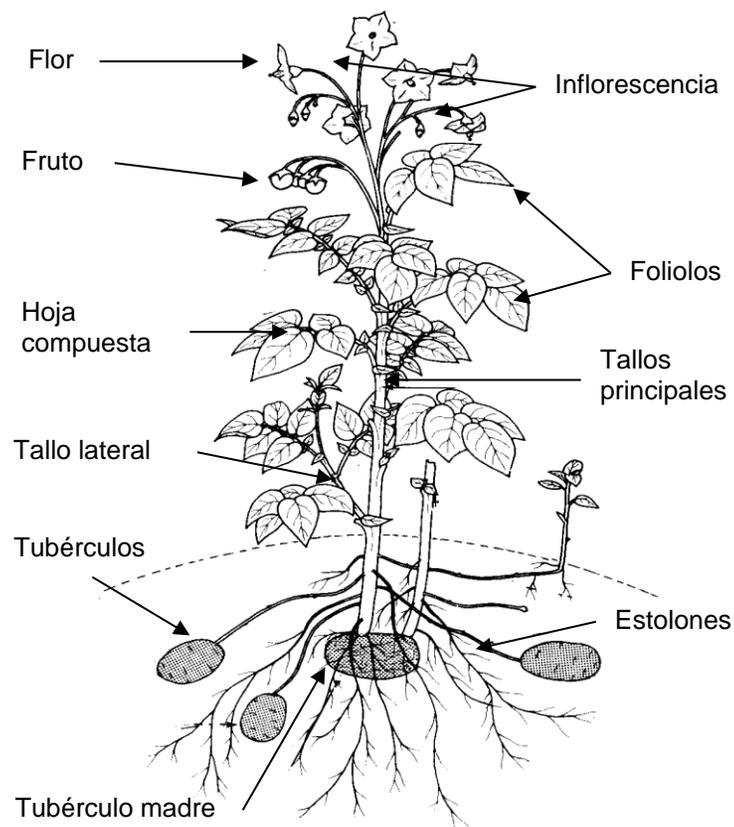


Figura 3. Morfología de la planta de papa (Huamán, 1990)

2.1.3. Especies de papa amarga

En Bolivia se estima que el 15% de la producción nacional de papa corresponde a las variedades amargas (Saravia, 2007).

Estrada (1992), manifiesta que las papas amargas corresponden solo a dos especies diferentes, la *Solanum jusepzkii* y la *Solanum curtilobum*. Aunque Huanco (1992), indica que existen otras especies con diferentes cantidades de glicoalcaloides como la *Solanum ajanhuiri*.

2.1.4. Importancia de las papas amargas

Las papas amargas presentan características que les dan ciertas ventajas sobre las papas dulces, entre las más importantes se citan:

- Son capaces de adaptarse a diferentes alturas. Se desarrollan por encima de los 42000 m.s.n.m. (Huanco, 1992).
- Son resistentes a las bajas temperaturas, toleran hasta -5° (Pacheco y Vélez, 1997). Esta ventaja se debe a que tienen hojas más gruesas y coriáceas, tienen 2 a 3 capas de tejido de empalizada en la epidermis, 2 a 3 veces más estomas en las hojas, habito arrosetado – postrado y 2 a 3 veces más contenido de agua que las dulces (Estrada, 1992).
- Son resistentes a las sequías, ataque de las plagas y enfermedades. Sin embargo estas especies son muy susceptibles al ataque de la verruga (*Synchytrium endobioticum*) (Estrada, 1992).
- Presentan un costo bajo de producción bajo reduciendo hasta un 25% del total gastado en los cultivares dulces, esto debido a la disminución del uso de agroquímicos para controlar plagas y enfermedades (Huanco, 1992).

2.1.5. Composición de la papa

La papa como cualquier organismo vegetal o animal está compuesta mayoritariamente por agua; los tubérculos por un 80% y la parte aérea por un 90% (Ellisseche, 2002).

En el caso de la producción de papa, el órgano o tejido de interés es el tubérculo, ya que es la parte aprovechable del cultivo. Por todo ello, se debe considerar la extracción

de nutrientes producida tanto por los tubérculos como por las partes vegetativas (tallo, raíces, etc.), si bien deben ir todas las extracciones referidas al rendimiento de los tubérculos (Cámara *et al.*, 2003).

Tanto la parte aérea como los tubérculos tienen altos contenidos en agua (Figura 4). Podríamos considerar que para un cultivo de papa con una producción hipotética de $50 \text{ Tm} \cdot \text{ha}^{-1}$, solamente 10 Tm (el 20%) estaría formada por moléculas distintas del agua (materia seca) (Cámara *et al.*, 2003). El 95% de esta materia seca, está compuesta por carbono (44%), hidrógeno (6%) y oxígeno (45%) (9.500 kg), elementos que la planta incorpora directamente desde la atmósfera o del agua (Cámara *et al.*, 2003).

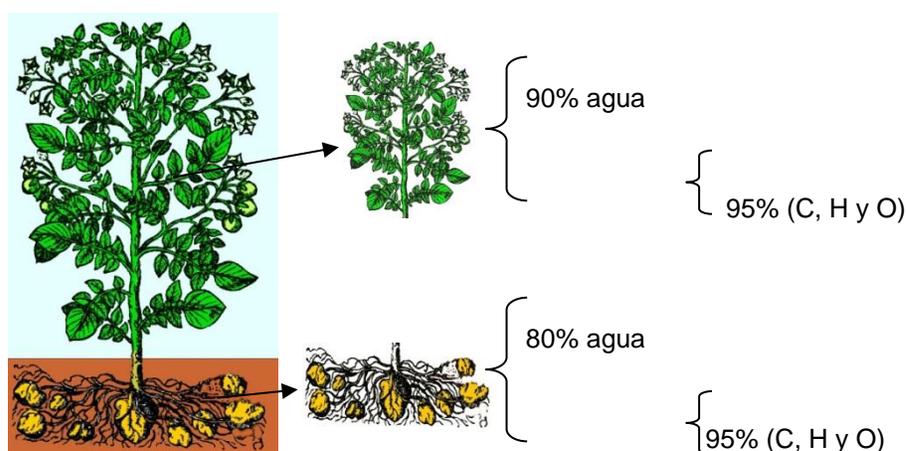


Figura 4. Composición de la planta de papa (Cámara *et al.*, 2003).

2.1.6. Extracción de nutrientes de la papa

Para Cámara *et al.* (2003), las extracciones de elementos por parte del cultivo, se expresan según el elemento mineral extraído, coincidiendo en ocasiones con las dosis de fertilizante a aportar (caso del nitrógeno). En otros casos, para obtener las unidades fertilizantes, los nutrientes extraídos deben ser multiplicados por un factor de corrección (fósforo: 2,29; potasio: 1,2; magnesio: 1,65). **Ecofisiología de la papa**

La parte aérea de la planta de papa desarrolla el proceso de fotosíntesis respiración, necesario para formar hidratos de carbono que serían transportados a zonas de crecimiento aéreo (follaje, brotes, flores, y fruto) y subterráneas como los estolones y tubérculos (Cámara *et al.*, 2003).

La formación de sustancias de tuberización por hojas y tallos depende de la variedad y también, de la temperatura y de la duración de la luz diaria (fotoperiodo). En días cortos se producen más sustancias de tuberización que en días largos, en los cuales aumenta el crecimiento vegetativo de la planta (Cámara *et al.*, 2003).

Tabla 1. Extracciones de macronutrientes en el cultivo de papa obtenidas por varios autores

Fuente	Rendimiento (t/ha m.f)	Elementos extraídos (kg/ha) Planta				Elementos extraídos (kg/ha) Total			
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O	MgO	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	MgO
Jacob y V. Uexküll (1968)	17.5					85	30	140	
Jacob y V. Uexküll (1968)	25					103	47	211	
Knott (1962)	20					140	39	190	
Knott (1962)	27					224	50	291	30
Knott (1962)	40					235	50	392	
Darpoux y Debelley (1967)	35					175	65	300	28
Tarazona (1997)	52.7					218	22	316	31
	53.8					290	35	498	61
Ribó Herrero, M (2004)	56.9	66.0	10.4	133	37.1	207	65	486	58
	56.9	62.9	9.30	105	30.5	217	61	462	55
E. Ekeberg y HCF Riley (1996)	30.53	41	11.0	75.9		125	51	246	
	30.57	52	13.9	96.4		140	56	263	
	26.65	55	15.1	102.8		126	50	248	
	31.45	47	12.6	85.5		135	55	257	
	33.55	37	9.85	71.1		136	56	259	

Fuente: *Ellisseche*, 2002

El rendimiento agrícola de la papa (índice de cosecha) será mayor cuanto mayor sea el peso de los tubérculos, debiendo considerar que un índice biológico elevado podría afectar negativamente a dicho rendimiento (Azcón-Bieto y Talón, 2000)

2.2. Cultivos vegetales

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

La técnica del cultivo *in Vitro* entre otras aplicaciones, está siendo usada para la producción de plantas genéticamente idénticas, multiplicación rápida (micropropagación) y para la obtención y mantenimiento de material libre de virus y de otros patógenos (Melgar *et al.*, 2006).

2.2.1. Micropropagación

Es un método de la multiplicación masiva de plantas *in vitro* (Roca y Mroginski, 1991). A través de la micropropagación, a partir de un explante de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme en condiciones de asepsia (Hurtado y Merino, 1987).

Para Roca y Mroginski (1991), este proceso incluye varias fases:

- Fase 0 : Preparación de la planta madre
- Fase I : Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia
- Fase II : Multiplicación de brotes
- Fase III : Enraizamiento
- Fase IV: Aclimatación

2.2.2. Cultivo de meristemos

El cultivo de meristemos es el cultivo *in vitro* del meristemo apical más los primeros primordios foliares, donde las células meristemáticas son indemnes a los virus es que el meristemo carece de tejidos vasculares, que es por donde se propagan los virus que van contaminando a la planta, además el meristemo tiene una mayor velocidad de crecimiento y en consecuencia el virus no alcanza a invadir la células de este tejido (Escala y García, 1991). Esta es un método efectivo para la erradicación de infecciones virales y es el material preferido para la conservación de germoplasma (Roca y Mroginski, 1991).

Los primeros éxitos en el cultivo de la papa fueron logrados por Morell y Martin, quienes hicieron posible la reincorporación al cultivo comercial de variedades que habían sido desechadas por virosis, obteniéndose por este sistema papas libres de los virus A, X, Y y S (Escala y García, 1991).

Para la propagación de cultivos de yemas de papa, el meristemo es ideal como material inicial ya que el meristemo aislado se desarrolla en el medio de cultivo de una manera genéticamente estable (Espinoza *et al.*, 1985).

2.2.3. Medio de cultivo

El medio de cultivo es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua. Usualmente incluye sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas y aminoácidos (Hurtado y Merino, 1987). A menudo se denomina Medio Basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y ocasionalmente con otras sustancias varias (Pierick, 1990).

Existen varias formulaciones de medios de cultivo propuestas por diferentes autores. Roca y Mroginski (1991), menciona para el cultivo de papa, el medio formulado por Murashige y Skoog 1962 con algunas modificaciones, se usa con mucho éxito. Este mismo autor indica que el medio tiene relativamente alto contenido de sal en comparación a otras.

Todo los medios de cultivo utilizados para la propagación *in vitro* en papa están basados en las Sales de Murashige y Skoog 1962. (Espinoza, 1985).

2.2.3.1. Sales inorgánicas

Los elementos minerales son muy importantes para la nutrición de las plantas, la especie de planta cultivada representa un factor; una variedad de una especie en particular tiene diferentes requerimientos minerales en comparación con otras variedades, la etapa de crecimiento también afecta a los requerimientos nutricionales (Rodríguez, 2002).

Eskew *et al.* (1984) citados por Roca y Mroginski (1991) señala, que es indispensable incluir los macroelementos como: C, H, O, P, K, N, S, Ca, y Mg y también los micromelementos como: B, Zn, Mn, Cu, Mo, Fe y Cl.

Para el cultivo de meristemas y ápices se usan con mucha frecuencia el medio basal propuesto por Murashige y Skoog 1962, con algunas modificaciones en sus ingredientes (Jiménez, 1999)

Hurtado y Merino (1987) indica, que las sales propuestas por Murashige y Skoog contiene: Nitrato de Amonio, Nitrato de Potasio, Fosfato Monopotásico, Cloruro de calcio, Sulfato de Magnesio, Ioduro de Potasio, Ácido Bórico, Sulfato de Manganeso, Sulfato de Zinc, Molibdato de Sodio, Sulfato de Cobre, Sulfato Ferroso, EDTA Disódico y

Cloruro de Cobalto. Estas sales se han diluido hasta 50% para cultivar diferentes especies con resultados positivos (Roca y Mroginski, 1991).

2.2.3.2. Carbohidratos

Normalmente para el cultivo *in vitro* de células, tejidos u órganos es necesario adicionar una fuente de carbono en el medio, debido a que el crecimiento *in vitro* tiene lugar en condiciones poco apropiadas para la fotosíntesis o incluso en oscuridad (Aguirre *et al.*, 2010). La sacarosa es la más utilizada para propósitos de micropropagación en concentraciones de 1 a 6%; sin embargo en muchos laboratorios el azúcar blanco refinado a resultado adecuado su uso por el 99,94% de sacarosa que contiene (Pierick, 1990).

2.2.3.3. Vitaminas

La mayor parte de las plantas sintetizan casi todas las vitaminas esenciales, pero aparentemente lo hacen en cantidades infra óptimas. Las vitaminas más usadas en los medios de cultivo son: la tiamina, piridoxina, ácido nicotínico, pantotenato cálcico, etc. (Pierick, 1990).

2.3. Análisis de Costos

2.3.1. Costos

Costo de producción es el valor del conjunto de insumos o factores de producción utilizados en un proceso productivo con el fin de obtener un producto, trabajo o servicio (Salgado, 2002).

2.3.2. Costos de producción

Son los que se generan en el proceso de transformación de la materia prima en un producto terminado, donde están involucrados la materia prima, mano de obra y gastos de fabricación indirectos (Salgado, 2002).

En el aspecto económico Alonso y Serrano (1991), clasifican los costos totales de producción en fijos y variables, variando de acuerdo al volumen producido.

2.3.2.1. Costos fijos

Los que permanecen invariables independientemente del volumen de producción. Se les conoce también como costos de estructura y permanecen constantes mientras no se modifique la estructura de la empresa (Polimeni *et al.* 2001).

2.3.2.2. Costos variables

Son aquellos que cambian de acuerdo con el volumen producido de producción, donde están los materiales y mano de obra directa (Polimeni *et al.*, 2001).

2.3.3. Estructura de costos en la micropropagación

Jiménez (1999), realizó la estructura de costos de la micropropagación en donde indica que los gastos en salarios del personal oscila entre 50 a 80% del costo total, posteriormente ocupa el segundo lugar en costos los cuartos de cultivos con 25%, seguidamente los gastos en reactivo constituyen un gasto de 5% y por último los gastos de servicios, gastos menores en suministros llegan al 25%.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA ubicada en la ciudad de El Alto del departamento de La Paz, Bolivia. Geográficamente ubicado a una altitud de 4068 m.s.n.m., a 16° 29' 26" Latitud Sur y 68° 11' 36" de Longitud Oeste (Google Earth, 2012).

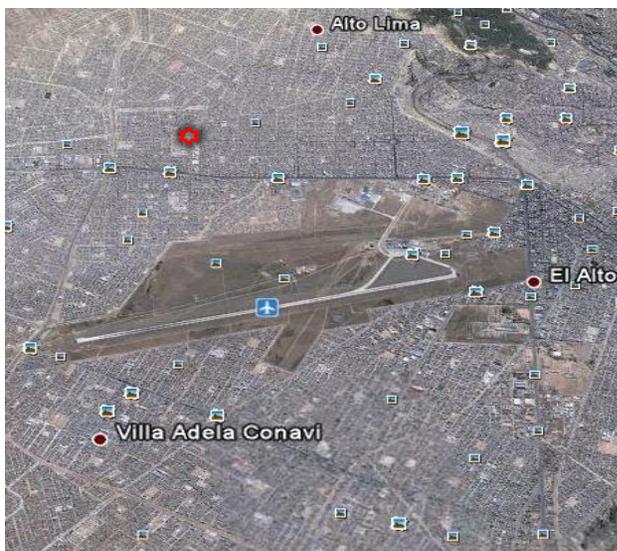


Figura 5. Imagen Satelital de la ubicación del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA (Google Earth, 2012).

3.2. Materiales

3.2.1. Material vegetal

Para la presente investigación se utilizaron tres ecotipos de papa amarga (*Solanum jusepzkii*), Q'aysalla (Acc-04), Pirinkayo (Acc-12) y Luk'i (Acc-16) procedentes de la colección de germoplasma de tubérculos andinos de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA. Estos ecotipos fueron colectados de las localidades de Walata

(Acc-4), Batallas (Acc-12) y Achacachi (Acc-16) respectivamente. Los cuales fueron establecidos en condiciones *in vitro* a través de cultivo de meristemos en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal.



Figura 6. Tubérculos de los ecotipos de papa amarga Luk'i (a), Pirinkayo (b) y Q'aysallla (c)

La elección de los ecotipos de papa amarga, fue debido a su amplia distribución en diferentes departamentos de nuestro país, como La Paz, Oruro, Potosí y Cochabamba, pero estos son conocidos con diferentes nombres locales y presentan características de buena productividad (PROINPA, 2001; Pérez *et.al.*, 2009).

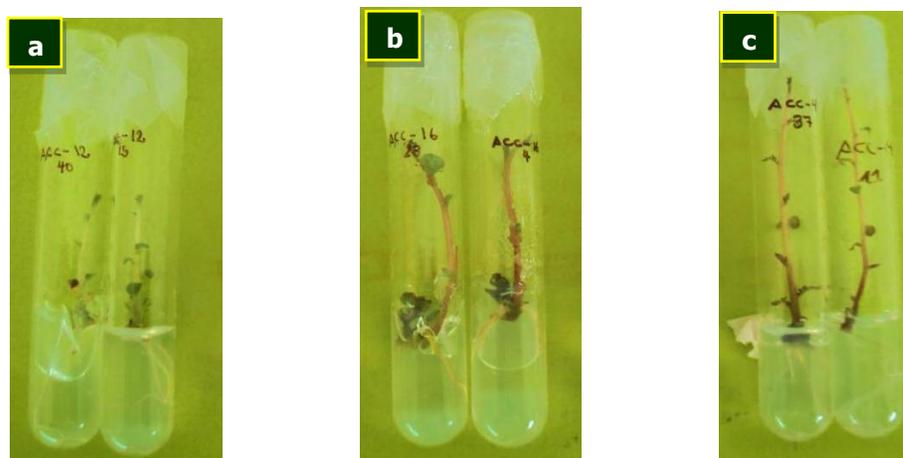


Figura 7. Vitroplantas de los ecotipos de papa amarga Pirinkayo (a), Luk'i (b), y Q'aysallla (c)

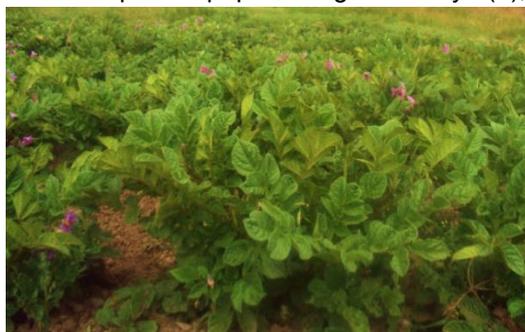


Figura 8. Papa amarga en campo de los agricultores

3.2.2. Equipos y materiales de laboratorio

3.2.2.1. Equipos

- a) Cámara de flujo laminar
- b) Autoclave
- c) PHmetro
- d) Agitado eléctrico con pastilla magnética
- e) Balanza analítica
- f) Termómetro de máxima y mínima
- g) Microondas
- h) Mechero

3.2.2.2. Material de vidrio

Vasos de precipitados (100, 200 y 1000 ml), Matraces Erlenmeyer (250, 500 y 1000 ml), Pipetas (1,5 y 20 ml), Placas petri, Frascos de mayonesa (300 y 500 ml), Tubos de ensayo.

3.2.2.3. Material químico

Sales del medio basal MS, Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, Ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N, Azúcar y Agar.

3.2.2.4. Material metálico

Pinzas bayoneta, pinzas de 6", mangos de bisturíes número 3, 4, hojas de bisturíes número 10, 11.

3.2.2.5. Implementos de laboratorio

Papel aluminio, masquin, magentas, plastifilm y parafilm, picetas, algodón, atomizador

3.2.2.6. Material de desinfección

Alcohol (70 y 96%), Hipoclorito de sodio (NaClO), jabón antifúngico y detergente líquido.

3.3. Metodología

3.3.1. Flujograma del trabajo experimental

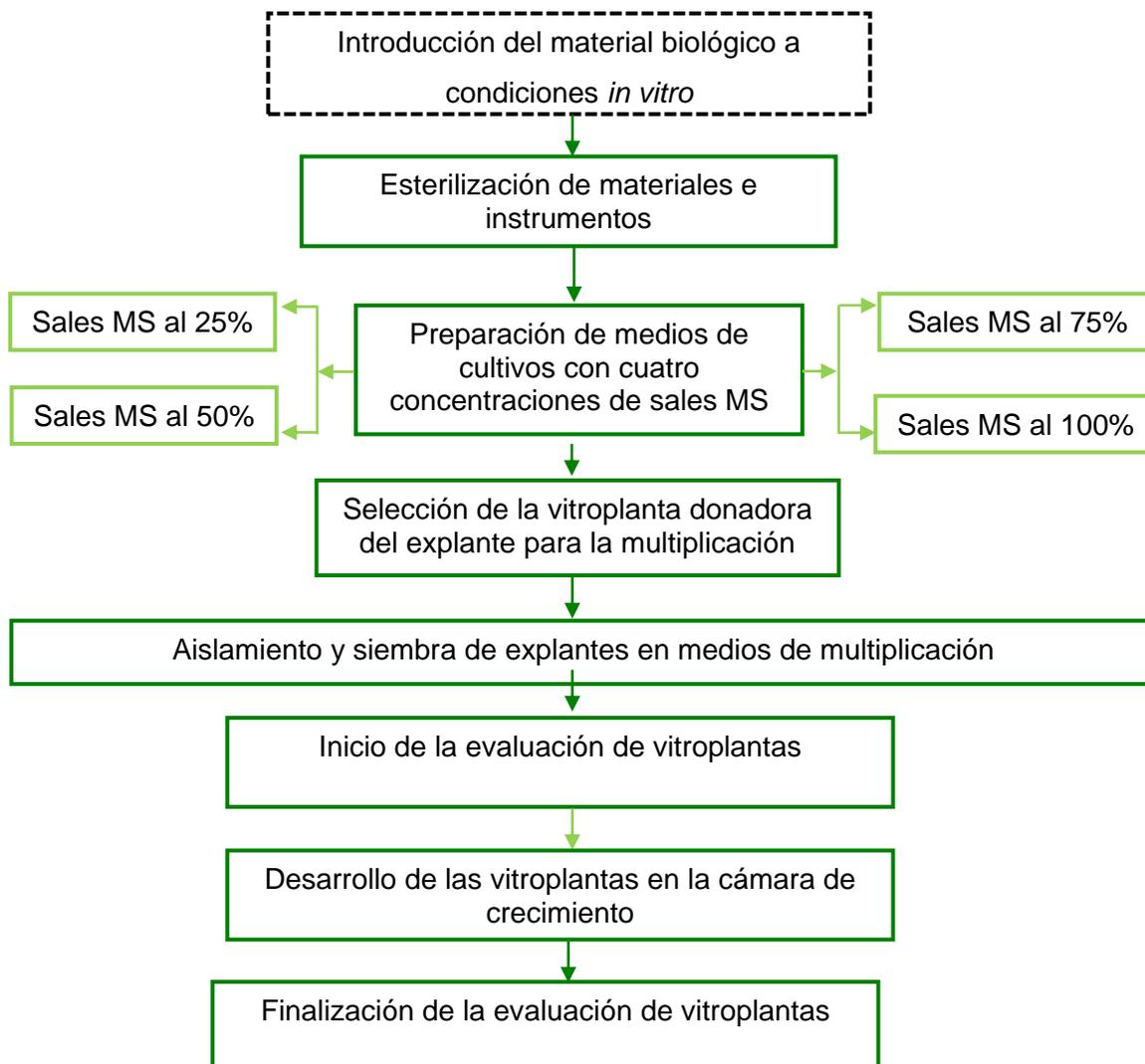


Figura 9. Flujograma del procedimiento experimental

3.3.1.1. Esterilización del material de vidrio e instrumentos

Todo el material de vidrio, material metálico, fue lavado con detergente comercial concentrado y enjuagado dos veces. El primer enjuague se realizó con agua de grifo y el segundo enjuague con agua destilada estéril, posteriormente, se secó con papel

desecante. Estos materiales se recubrieron con papel estañado y plástico para su posterior esterilización en calor húmedo.

Se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 121° C y 1 atmosfera de presión durante 20 minutos.



Figura 10. Esterilización de los materiales de vidrio

3.3.1.2. Preparación de medios de cultivo

La preparación del medio cultivo se realizó con una anticipación de 8 días, antes de transferir de la fase de establecimiento a la fase de multiplicación.

Se prepararon cuatro medios de cultivos diferentes, cada una de 86 ml. Para ello, inicialmente se vertieron 70 ml de agua estéril, en cuatro matraces erlenmeyer. Posteriormente se dispensaron las soluciones de MS con una pipeta graduada:

- a.** Al primer matraz (100% de sales de MS) con 0,9 ml de las soluciones A, B, C, D y E.
- b.** Al segundo matraz (75% de sales de MS) con 0,7 ml de A, B, C, D y 0,9 ml de solución E
- c.** Al tercer matraz (50% de sales de MS) con 0,5 ml de A, B, C, D y 0,9 ml de solución E
- d.** Al cuarto matraz (25% de sales de MS) con 0,2 ml de A, B, C, D y 0,9 ml de solución E



Figura 11. Preparación de medios de cultivo. Matraz erlenmeyer con la respectiva disolución de Sales MS (a) y Adición de las soluciones stock a los Matraces de preparación de medios de cultivo (b).

Seguidamente se adicionaron a cada una de las soluciones con $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ de azúcar refinada blanca, como fuente principal de sacarosa. Cada solución se vertió en las probetas de 100 ml con la finalidad de enrazar con agua estéril a 86 ml, nuevamente se volvieron a verter en sus matraces erlenmeyer respectivos del que se vertieron inicialmente.



Figura 12. Pesaje de sacarosa en la balanza analítica

Luego se ajustaron el pH a 5,8 de cada una de las cuatro soluciones, considerando el descenso de 0,1 a 0,2 después del autoclavado.

Posteriormente se adicionaron la carragenina a razón de $8 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ en cada una de las soluciones, se llevaron a una hornilla eléctrica hasta que el gelificante en la solución quede transparente.



Figura 13. Agitado y calentado de medio de cultivo

Seguidamente se dispensaron en los 156 tubos de ensayo de 12*1 cm a razón de 2 ml*tubo⁻¹. Luego se sellaron con papel aluminio.



Figura 14. Sellado de tubos de ensayo para el autoclavado

Finalmente se esterilizaron en un autoclave a 121 °C a 1 atmosfera de presión durante 15 minutos, a esto se lo denomina Medio de Cultivo.



Figura 15. Autoclavado de medio de cultivo

3.3.1.3. Multiplicación de vitroplantas

La multiplicación se lo realizó en ambiente aséptico dentro de una cámara de flujo laminar dotados de sus implementos para la operación.

En el área de trabajo de la cámara de flujo laminar se introdujeron materiales como: pinza, bisturí, cajas *petri*, algodón, marcador indeleble, plastifilm, mechero bunsen, desinfectados con hipoclorito de sodio (NaClO) al 0,5%. Este material fue esterilizado con rayos U.V.E. durante 15 minutos.



Figura 16. Área de trabajo para la multiplicación de vitroplantas

Se colocaron vitroplantas de los tres ecotipos, más los 156 tubos con medios de cultivo desinfectadas con alcohol al 70% (v/v).

Se realizó la multiplicación de los nudos cortando segmentos uninodales con el bisturí de la parte media de cada vitroplanta, donde cada nudo fue sembrado en cada tubo de ensayo tal como lo recomienda Salaués y Rocabado (1998), sellándolos completamente con plastifilm.

Después de terminar la multiplicación, los tubos sembrados fueron incubados en la cámara de crecimiento con temperatura media de 20° y 16 horas luz.



Figura 17. Multiplicación de vitroplantas

3.3.1.4. Diseño experimental

Para obtener la información de la investigación se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial simple 3*4 con 13 repeticiones (Calzada, 1980).

a) Factores de estudio

Los factores de estudio y la combinación respectiva entre los niveles de cada uno de los factores se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Descripción de los factores y sus respectivos niveles de cada factor.

Factor A		Factor B	
Niveles del factor A	Accesiones de papa amarga	Niveles del factor B	Concentración de Sales MS
a1	Luk'i (Acc-16)	b1	100% MS
a2	Q'aysalla (Acc-04)	b2	75% MS
a3	Pirinkayo (Acc-12)	b3	50% MS
		b4	25% MS

b) Distribución de los tratamientos

La combinación de los tratamientos resultante de los niveles de cada factor se describe en la Tabla 3.

Tabla 3. Descripción de la combinación de los niveles de cada uno de los factores que conforman los tratamientos.

Tratamientos	Combinación de los niveles de cada factor	Descripción de los niveles de los factores de cada tratamiento
T1	a1b1	Luk'i + 100% MS
T2	a1b2	Luk'i + 75% MS
T3	a1b3	Luk'i + 50% MS
T4	a1b4	Luk'i + 25% MS
T5	a2b1	Q'aysalla + 100% MS
T6	a2b2	Q'aysalla + 75% MS
T7	a2b3	Q'aysalla + 50% MS
T8	a2b4	Q'aysalla + 25% MS
T9	a3b1	Pirinkayo + 100% MS
T10	a3b2	Pirinkayo + 75% MS
T11	a3b3	Pirinkayo + 50% MS
T12	a3b4	Pirinkayo + 25% MS

c) Modelo lineal

Para Calzada (Calzada, 1980) el modelo para el diseño completamente al azar con arreglo bifactorial es la siguiente:

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

Donde:

Y_{ijk} = Una observación cualquiera

μ = media general

α_i = Efecto del i-ésimo ecotipo

β_j = Efecto del j-ésimo niveles de concentración de MS

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interacción del i-ésimo ecotipo con el j-ésimo niveles de concentración de MS. Interacción ecotipo x niveles de concentración de MS.

ε_{ijk} = Error experimental

3.3.2. Variables evaluadas

3.3.2.1. Altura de vitroplanta (AV)

Se midió la altura de vitroplantas en función a lo recomendado por Aguirre *et al.* (2010) desde la base del cuello hasta la altura máxima con una frecuencia de 7 días durante 30 días la unidad de medida fue en centímetro, el cual se midió con una regla transparente milimétrica.



Figura 18. Altura de vitroplanta

3.3.2.2. Número de nudos (NN)

Esta variable se ha evaluado en base a lo descrito por Aguirre *et al.*, (2010) realizando un conteo por simple observación de todos los nudos presentes en el vástago de la vitroplanta, por un periodo de 30 días con una frecuencia de 7 días.



Figura 19. Número de nudos

3.3.2.3. Número de hojas (NH)

Se realizó el conteo por simple observación de todas las hojas presentes en el vástago de la vitroplanta propuestas por Vega y Guzmán (2005) cada 7 días durante un tiempo de 30 días con una frecuencia de 7 días.



Figura 20. Número de nudos

3.3.2.4. Tamaño de hoja (TH)

El tamaño de hoja se calificó de acuerdo con las escalas propuestas por Vega y Guzman (2005) quien lo describe de la siguiente manera: hoja pequeño (<2 mm), hoja mediano (2-4 mm) y hoja grande (>4 mm), de todas las hojas del tercio medio del vástago de la vitroplanta, esta evaluación se realizó con una frecuencia de siete días por un periodo de tiempo de 30 días.

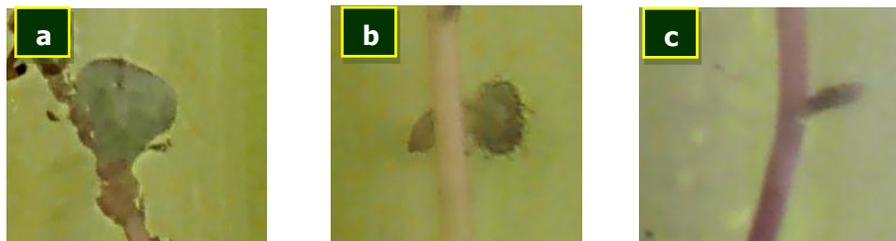


Figura 21. Tamaño de hoja de las vitroplantas

3.3.2.5. Presencia de raíces (PR)

La presencia de raíces se calificó cada siete días, donde se registraron la presencia de raíz y ausencia de cada una de las vitroplantas bajo la siguiente escala: 1 = Ausente y 2 = Presente

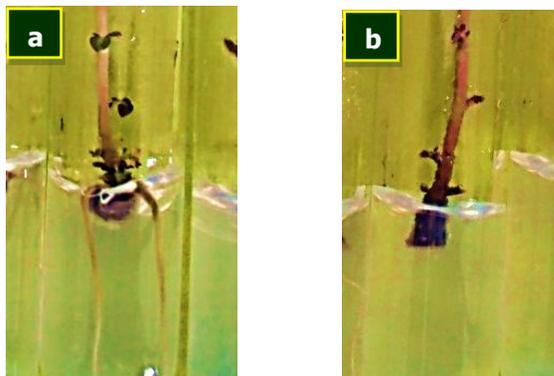


Figura 22. Presencia de raíces (a) y ausencia de raíces de las vitroplantas (b)

3.3.2.6. Grado de enraizamiento (GE)

Se calificó las vitroplantas que desarrollaron su sistema radical en base a lo descrito por Choque (2009) donde propone la siguiente escala: 1 = ausencia de raíces, 2 = raíz principal desarrollada y 3 = raíz principal con raíces secundarias. Esta evaluación se realizó a los 30 días de la siembra *in vitro*.

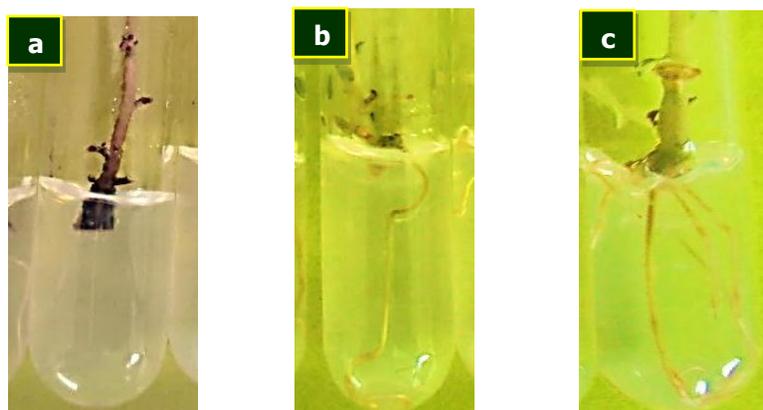


Figura 23. Grado de enraizamiento de las vitroplantas: ausencia de raíces (a), raíz principal desarrollado (b) y raíz principal con raíces secundarias (c).

3.3.2.7. Coeficiente de multiplicación (CM)

Se ha evaluado realizando el conteo por simple observación de número de nudos de las vitroplantas que se pueden multiplicar en el siguiente subcultivo, esta variable se evaluó al finalizar la evaluación.

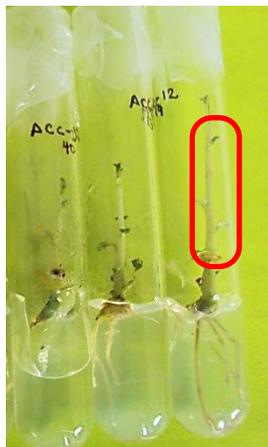


Figura 24. Coeficiente de multiplicación de las vitroplantas

3.3.2.8. Variables económicas

Para el análisis económico del presente trabajo, se realizó tabla 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

Se calculó en primera instancia los costos de mano de obra requeridos en todo el proceso de multiplicación de vitroplantas, en horas de trabajo. Desde la adquisición del material vegetal hasta obtener vitroplantas en un lapso de cuatro semanas.

También se calculó los costos de equipos (por depreciación), materiales (vegetal y de vidrio), insumos y energía eléctrica utilizados en el proceso de multiplicación de vitroplantas.

Al finalizar se sumó todo los costos variables por cada tratamiento, que en total fueron 12.

b) Beneficio bruto (Bb)

Se calculó multiplicando el precio por el número de las vitro plantas de cada tratamiento, con la siguiente fórmula:

$$\mathbf{Bb} = P \cdot NV$$

Donde:

Bb = Beneficio bruto (Bs/No. de vitro plantas de todo el tratamiento)

P = Precio de vitroplanta (Bs/unidad de vitroplanta)

NV= Número de vitro plantas (cantidad de vitroplanta/ tratamiento)

c) **Beneficio neto**

Este valor se obtiene restando el total de los costos variables del beneficio bruto.

$$\mathbf{Bn} = Bb - CV$$

Donde:

Bn = Beneficio neto (Bs/tratamiento)

Bb = Beneficio bruto (Bs/No. de vitroplanta de todo el tratamiento)

CV = Costo variable (Bs/tratamiento)

d) **Beneficio costo (B/C)**

Este valor se obtiene dividiendo el beneficio bruto con el total de los costos.

$$\mathbf{B/C} = Bb/CV$$

Donde:

B/C = beneficio /costo

Bb = Beneficio bruto (Bs/No. de vitroplantas de todo el tratamiento)

CV = Costo variable (Bs/tratamiento)

3.3.3. Análisis estadístico de las variables evaluadas

Para el análisis de los datos se realizaron, primeramente en Microsoft Office EXCEL para estructurar la base de datos, elaborar figuras y tablas. Los datos de la matriz básica fueron exportados y procesados el análisis descriptivo, análisis de varianza, prueba de medias de Duncan en el software estadístico Statistical Package For Social Sciences (SPSS-IBM, versión 20) y el análisis de componentes principales (ACP) en software estadístico S-PLUS (versión 2000).

3.3.3.1. Análisis descriptivo

Permiten apreciar y describir el comportamiento de las diferentes variables, entre las más comunes tenemos: promedio, media, rango, desviación estándar, varianza, simetría y curtosis (Vásquez, 1990).

Con este análisis se realizó una descripción del comportamiento de las variables para observar la normalidad de los datos.

3.3.3.2. Análisis de varianza

Para Little y Hills (1976), es el método por el cual se analiza la variabilidad con respecto a componentes útiles (tratamientos, bloques, error, etc.). Estos mismos autores señalan, que el análisis de varianza considera las variaciones totales, la variación entre tratamientos y la variación dentro del grupo que recibió el mismo tratamiento o variación atribuible al error experimental.

Este análisis se realizó ($\alpha=0,05$ y $\alpha= 0,01$) para comparar medias de los factores como el factor ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*. También se emplearon para comparar concentraciones de sales de MS.

3.3.3.3. Prueba de medias de Duncan

Esta prueba se realiza para comparar medias entre tratamientos que tengan homogeneidad de varianzas y toma en cuenta el orden de los tratamientos (Vásquez, 1990).

$$ALS(D) = AES(D) * Sx$$

Donde:

ALS(D) = Amplitud límite significativas de Duncan

AES(D) = Amplitud estudiantizadas significativas de Duncan

Sx = Error estandar

Con esta prueba se realizó la comparación de medias de los factores principales, donde los promedios diferentes se designaron letras ($P < 0,05$).

3.3.3.4. Análisis de coeficiente de correlación

Para Rodríguez (1995), el coeficiente de correlación de Pearson, se utiliza para variables cuantitativas, es un índice que mide el grado de asociación entre distintas variables relacionadas en términos relativos, cuyo valor oscila entre -1 y $+1$.

Se realizó un resumen de todos los coeficientes de correlación en una tabla comparando entre cada par de variables cuantitativas a un nivel de significancia (5%).

3.3.3.5. Análisis de variables categóricas

a) Chi cuadrada

La opción de Chi cuadrado (conocido también como X^2), proporciona una estadística que permite contrastar la hipótesis de que los dos criterios se utilizan variables independientes. Por tanto, podemos utilizar X^2 para establecer el grado de compatibilidad existente entre el valor del estadístico X^2 y la hipótesis de independencia. Si los dos son compatibles con la hipótesis de independencia, la probabilidad asociada al estadístico X^2 será alta ($> = 0,05$). Si esa probabilidad es muy pequeña ($< = 0,05$), se considera que los datos son incompatibles con la hipótesis de independencia y concluye que las variables en estudio están relacionadas (Little y Hills, 1976).

Para realizar una interpretación fue necesario ordenar en una tabla de contingencias que estas son diseñadas para evaluar el grado de asociación existente entre dos variables categóricas en diferentes tipos de situaciones.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de variables cuantitativas

4.1.1. Análisis descriptivo

La Tabla 4 refleja los estadísticos estimados para variables cuantitativas y se describen los valores estadísticos más importantes que son utilizados como base para explicar el comportamiento individual de cada variable (altura de vitroplanta, número de nudos, número de hojas, coeficiente de multiplicación y longitud de raíz), respecto al material genético utilizado para este propósito.

La variable altura de vitroplanta obtuvo un media de 5,93 cm con una desviación estándar de 1,47 cm, tuvo un rango de 3 cm a 9,6 cm. Siendo que el ecotipo Luk'i obtuvo el valor máximo y la mínima al ecotipo Q'aysalla (Tabla 4 y Anexo 20).

La variable número de nudos fluctuó entre 5 nudos a 12 nudos por vitroplanta, su media para esta característica de 7,85 nudos y el valor máximo corresponde al ecotipo Luk'i y la mínima al ecotipo Pirinkayo. (Tabla 4 y Anexo 20).

Tabla 4. Estadística descriptiva de tendencia central, dispersión y distribución para variables cuantificadas en el estudio de evaluación de la multiplicación *in vitro* de tres accesiones de papa amarga en cuatro concentraciones de sales MS (1962) en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

Variables	Estadísticos							
	Rango	Mín.	Máx.	Media	Std.	Var.	Sesgo	Curtosis
Altura de vitroplanta	6,6	3	9,6	5,93	1,47	2,15	0,22	-0,57
Número de nudo	7,0	5	12	7,85	1,42	2,01	0,23	-0,35
Número de hoja	8,0	6	14	9,65	1,50	2,25	0,23	-0,23
Coeficiente de multiplicación	7,0	3	10	5,73	1,51	2,28	0,31	-0,43
Longitud de raíz	2,1	1,2	3,3	2,52	0,47	0,22	-0,46	0,10

Altura de vitroplanta (cm); Número de nudo (unidades); Número de hoja (unidades); Coeficiente de multiplicación (unidades) y Longitud de raíz (cm).

En cuanto al número de hojas, se obtuvo un promedio de 9,65 siendo el valor máximo de 14 hojas que corresponde al ecotipo Luk'i y la cantidad mínima de 6 hojas que pertenece al mismo ecotipo mencionado (Tabla 4 y Anexo 20)

En cuanto a la variable de coeficiente de multiplicación se obtuvo un promedio de 5,73 con un rango de 7, siendo el valor máximo de 10 que corresponde al ecotipo Luk'i y el valor mínimo de 3 que corresponde al ecotipos Luk'i, Pirinkayo y Q'aysalla . Finalmente la variable de Longitud de raíz osciló entre 1,2 cm correspondiente al ecotipo Pirinkayo a 3,3 cm que corresponde al mismo ecotipo, con una media de 2,52 cm y una desviación estándar respecto a la media fue de 0,47 cm (Tabla 4 y Anexo 20).

Por las características de los coeficientes de distribución (sesgo y curtosis) obtenidas, se puede indicar que los criterios son satisfechos y que por lo tanto amerita en el análisis inferencial el uso de pruebas de hipótesis paramétricas (Tabla 4).

4.1.2. Análisis de varianza

Mediante un análisis de varianza (Tabla 5), se computó las diferencias entre los tratamientos evaluados en el presente trabajo de investigación para cada una de las variables de respuesta cuantitativas.

Realizado el análisis de varianza para altura de vitroplanta coeficiente de multiplicación existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ecotipos evaluados. En cuanto a la concentración de sales MS existen diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) Sin embargo la interacción de ecotipo por concentración de sales MS no fue significativo lo cual indica que cada factor tuvo un efecto independiente en los resultados obtenidos en este caso.

El coeficiente de variación (CV) para las variables altura de vitroplanta (AV), coeficiente de multiplicación (CM) fue de 16% y 19,9 % respectivamente. Este valor obtenido indica el grado de dispersión mínima de los datos, aunque estos valores están fuera de lo establecido.

El análisis de varianza (Tabla 5) para la variable número de nudos (NN), presentó diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre ecotipos y para las la variable número de hojas (NH) no presentó diferencias significativas. Sin embargo existen diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre las concentraciones de MS en las

variables descritas anteriormente, comprendiendo que existe el efecto de las concentraciones de sales en las variables descritas. En cambio no existen diferencias significativas en la interacción ecotipo por MS, por lo tanto los factores en estudio son independientes.

Tabla 5. Análisis de varianza para variables componentes principales (AV; altura de vitroplanta, NN; número de nudos, NH; número de hojas, CM; coeficiente de multiplicación y LR; longitud de raíz), tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

FUENTE DE VARIACIÓN	GL.	CUADRADO MEDIO				
		AV	NN	NH	CM	LR
ECOTIPO	2	24,16*	5,66**	2,93n.s.	5,75*	0,02n.s.
MS	3	32,05**	29,80**	36,65**	37,26**	1,18**
ECOTIPO*MS	6	1,35n.s.	1,00n.s.	2,31n.s.	1,00n.s.	0,57**
ERROR	97	0,89	1,22	1,27	1,31	0,17
C.V.		16,0%	14,1%	11,7%	19,90%	16,40%

* Significativa a una probabilidad estadística al $\alpha=0.05$, ** Significativa a una probabilidad estadística al $\alpha=0.01$.

El coeficiente de variación (CV) para las variables número de nudos (NN), número de hojas (NH) fue de 14,1% y 11,7 % respectivamente. El segundo valor muestra el coeficiente más bajo de las variables cuantitativas estudiadas.

El análisis de varianza (Tabla 5), para la variable longitud de raíz (LR), indica que los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas entre el factor ecotipo. No obstante existen diferencias altamente significativas ($p<0.01$) en el factor concentración de sales MS, así también diferencias altamente significativas ($p<0.01$) para la interacción ecotipo por la concentración de sales MS.

El coeficiente de variación (CV) para la variable longitud de raíz (LR), fue de 16,4%. Este valor indica que la dispersión de datos está dentro de lo establecido.

4.1.3. Comparación de medias de Duncan

4.1.3.1. Altura de vitroplanta

El análisis de prueba de medias Duncan (Figura 25), existen diferencias estadísticas significativas entre los ecotipos, donde el ecotipo Lukí (A) obtuvo una mayor altura de

6,7 cm, en comparación al ecotipo Q'aysalla (C) que alcanzó una altura mínima de 5,1 cm, en cambio el ecotipo Pirinkayo (B) presentó una altura intermedia de 6,0 cm. Al respecto Esta diferencia entre los ecotipos con relación a la altura de vitroplanta de papa amarga puede atribuirse a la diferencia de la carga genética López (2001), ya que su capacidad de división y regeneración celular son distintos así lo indica López (2001).

Gómez (2003) en la evaluación de cinco accesiones de papa amarga en cuatro medios de cultivo reportó 3,5 cm, 5 cm y 5,8 cm para los ecotipos Lukí, Pirinkayo, Q'aysalla, respectivamente siendo estos los promedios relativamente bajas a los obtenidos en esta investigación, estas pueden atribuirse probablemente al hecho de que los medios utilizados y las condiciones de incubación fueron diferentes.

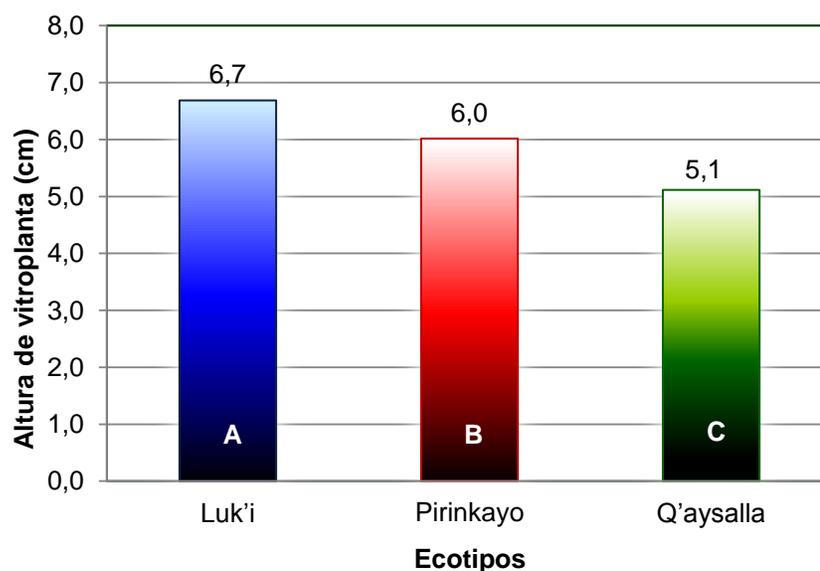


Figura 25. Comparación de media de altura de vitroplanta de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

El análisis de medias Duncan (Figura 26) para concentraciones de sales de MS se observó diferencias altamente significativas entre las cuatro concentraciones, donde las concentración de sales de MS al 75%, 100% mostraron un solo grupo (A) con mayor altura 7 cm y 6,6 cm, en comparación a la concentración de 50% (B) que tuvo una altura intermedia de 5,3 cm. Sin embargo, la concentración al 25% (C) de sales de MS obtuvo una menor altura de 4,7 cm. Al respecto Enríquez del Valle *et al.* (2005) menciona que pueden haber genotipos de un mismo género y una misma especie que

puedan tener diferentes requerimientos nutricionales por la carga genética que constituye cada cultivar.

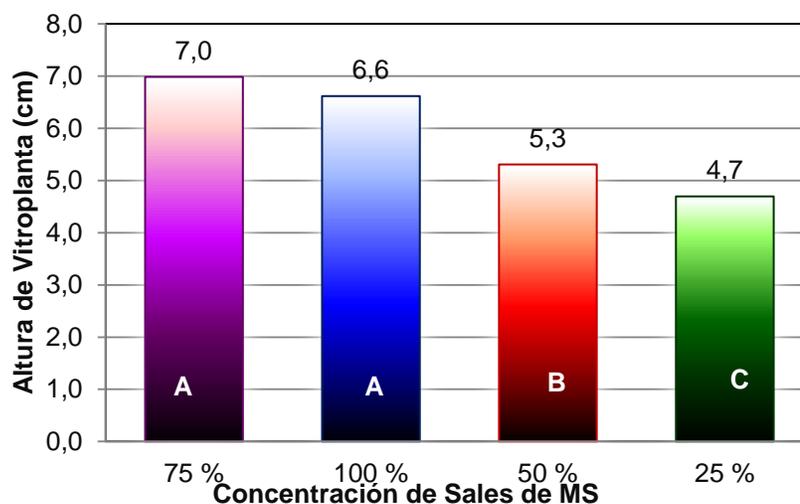


Figura 26. Comparación de media de Altura de vitroplanta de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

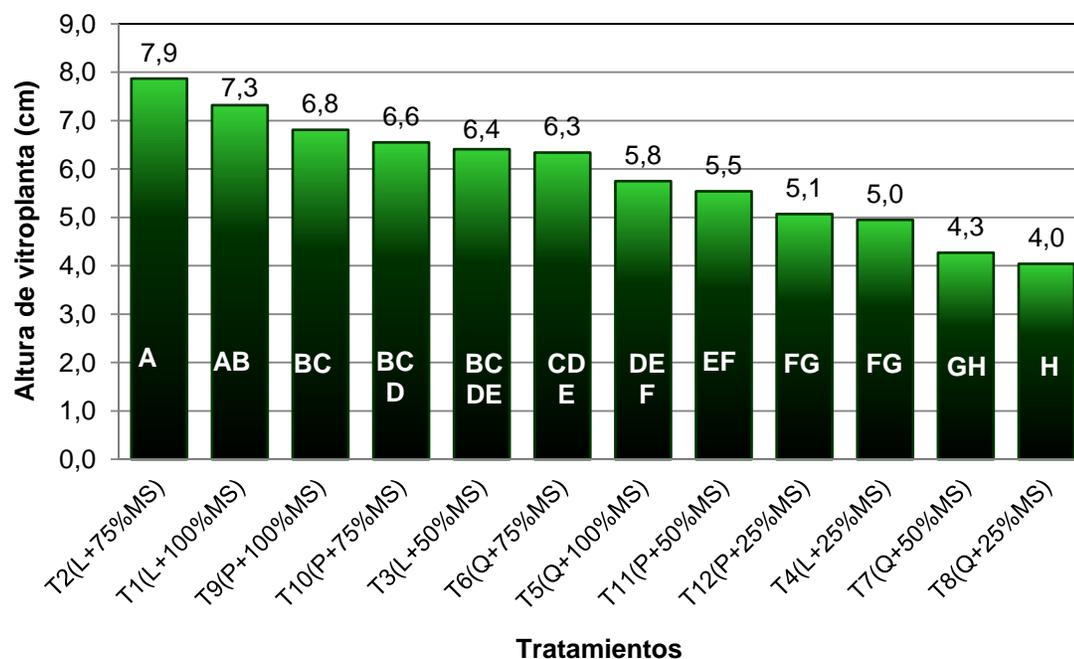


Figura 27. Comparación de media de altura de vitroplanta de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Al parecer la incidencia de las bajas concentraciones de sales de MS afecta al incremento de la altura de vitroplantas. Al respecto Yaguache (2009), indica que la disminución de la concentración de sales minerales en el medio de cultivo MS frena el crecimiento de las plántulas *in vitro*. Además Cañal *et. al* (2001), señala que la concentración mineral de los medios de cultivo, condiciona totalmente la respuesta de los cultivos en cuanto a crecimiento y características fisiológicas de las plantas obtenidas; lo cual está condicionando la definición de nuevos medios de cultivo aplicados de forma estática o de forma dinámica durante el transcurso de cada período de cultivo.

En la Figura 27, se observa la comparación de medias de altura de vitroplanta de tres ecotipos en función a diferentes concentraciones de sales MS, en once grupos diferentes donde se destaca el T2 que corresponde al ecotipo Luk'i en el medio de cultivo que tiene 75% de sales MS, seguido de los T1, T9, T10 y T3 y el T8 muestra el tratamiento con menor altura de vitroplanta que corresponde al ecotipo Q'aysalla en medio de cultivo de MS al 25%. Observando los datos obtenidos muestra la disminución del incremento en altura con la reducción de concentraciones de sales MS. Al respecto Azcón-Bieto y Talón (2000) menciona que una planta será incapaz de completar su ciclo vital en ausencia del elemento mineral considerado como esencial y al reducir las cantidades requeridas las plantas tendrán un desarrollo mínimo.

4.1.3.2. Número de nudos

Realizado la prueba de medias de Duncan (Figura. 268), se evidenció la diferencia significativa entre los ecotipos clasificándolos en dos niveles, donde el ecotipo Lukí (A) obtuvo la mayor cantidad de nudos por vitroplanta con una media de 8,3, en cambio los ecotipos Q'aysalla (B) y Pirinkayo (B) reportaron con menor cantidad de nudos de 7,8 y 7,5 respectivamente. Este comportamiento diferenciado puede deberse a la constitución genética de cada uno de los ecotipos de papa amarga.

En el análisis de medias Duncan (Figura 29) del número de nudos por vitroplanta se evidenció que existen diferencias altamente significativas entre las concentraciones de sales de MS revelando dos niveles (A y B), donde las concentraciones al 100% (A), 75% (A) de sales de MS mostraron la mayor cantidad de nudos de 8,7 y 8,6

respectivamente, en comparación con las concentraciones al 50% (B), 25% (B) que expresaron la menor cantidad de nudos con 7,2 y 6,8 correspondientemente.

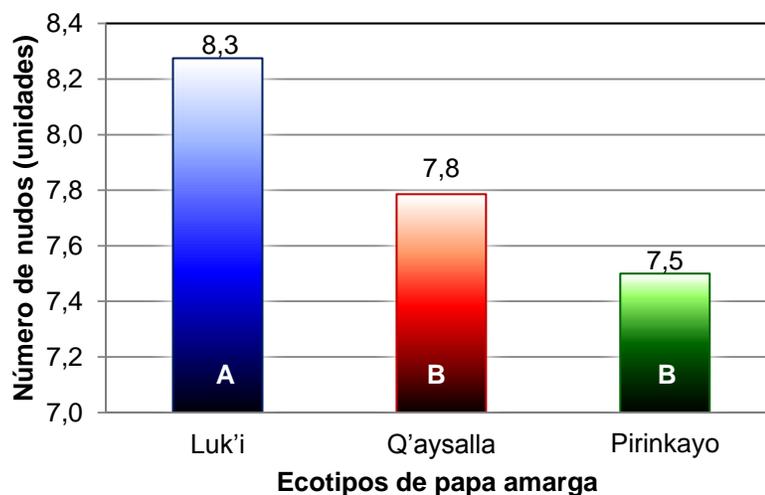


Figura 28. Comparación de media de número de nudos de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

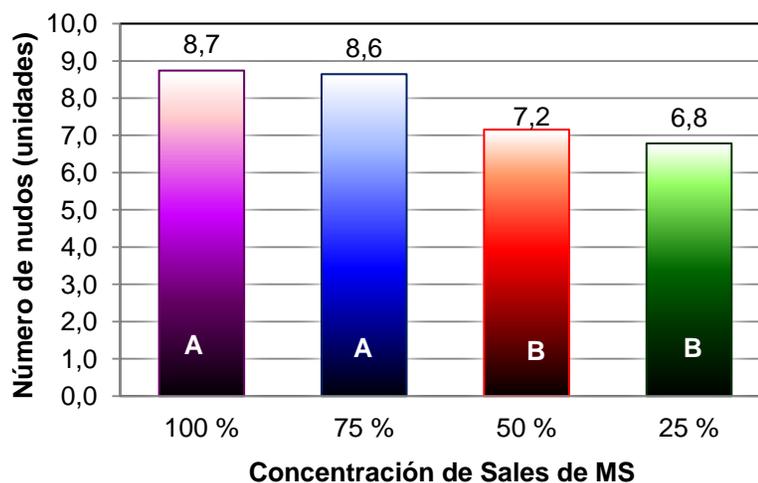


Figura 29. Comparación de media de número de nudos en cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

En la Figura 30 se observa que el T1 forma el mejor grupo (A) según Duncan ($P < 0,05$) con una media de 8,7 nudos que pertenece al ecotipo Luk'i con 100% de sales MS, seguidos de los tratamientos T2, T5, T6, T9 y T10. Sin embargo los tratamientos T8, T11, T12 y T14 tienen promedios inferiores al resto de los tratamientos establecidos que corresponde a concentraciones de sales MS entre el 25% y 50%. Esta diferencia entre los tratamientos puede deberse a la carga genética de los ecotipos de papa amarga tal como lo menciona Sánchez *et al.* (2010) que el desarrollo de los nudos de vitroplantas

de diferentes variedades, tienen un crecimiento diferenciado por los genes que constituye el cultivar.

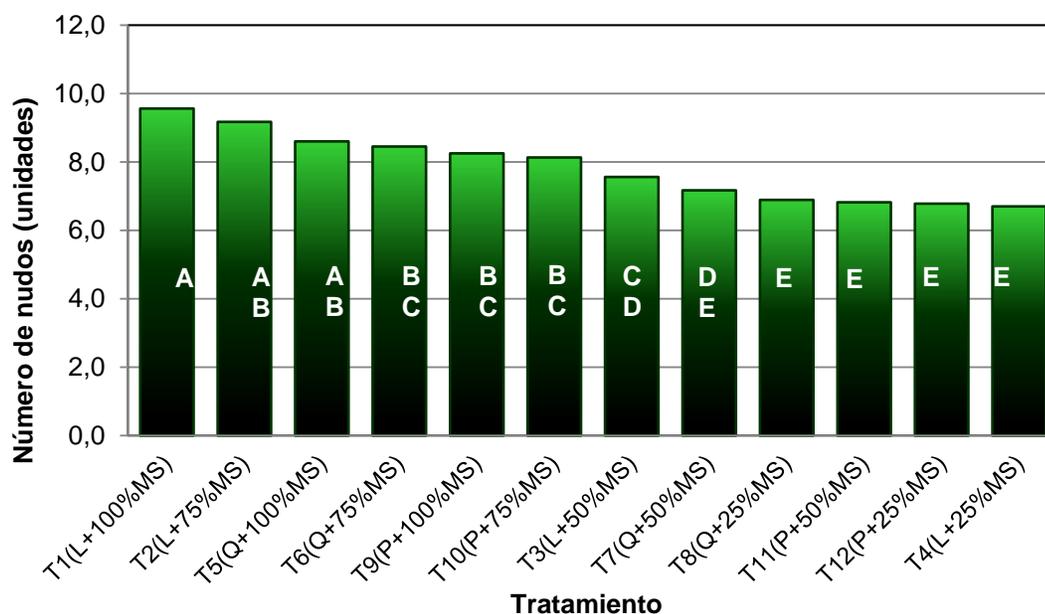


Figura 30. Comparación de media de número de nudos de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

4.1.3.3. Número de hojas

En cuanto al número de hojas la prueba de Duncan (Figura 31), agrupa en dos niveles: El ecotipo Luk'i (A) obtuvo la mayor altura con 10 cm en cambio los ecotipos Q'aysalla (B), Pirinkayo (B) obtuvieron 9,6 cm y 9,4 cm correspondientemente. Esto posiblemente debido a la carga genética y la respuesta fisiológica a condiciones *in vitro* que posee cada uno de ellos.

Resultados similares fueron encontrados por Gómez (2003), en el número de hojas: El ecotipo Lukí con 14 hojas, seguida de Pirinkayo con 12 hojas y Kaisilla con 11 hojas. En esta investigación se encontraron para los ecotipos Lukí, Qaysalla y Pirinkayo 10, 10,6, 9,4 cm respectivamente.

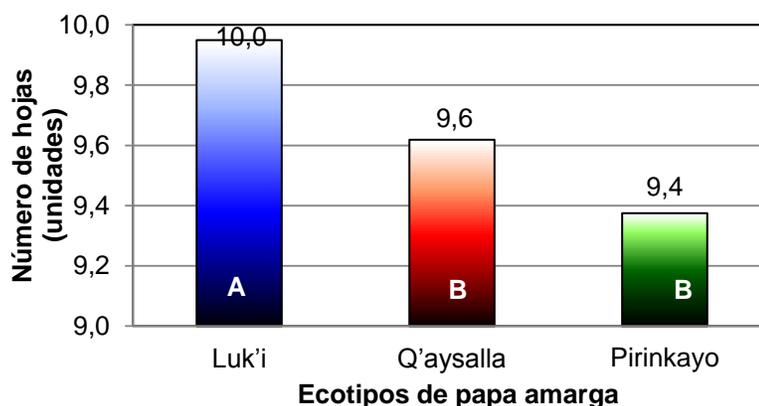


Figura 31. Comparación de media de número de hojas de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

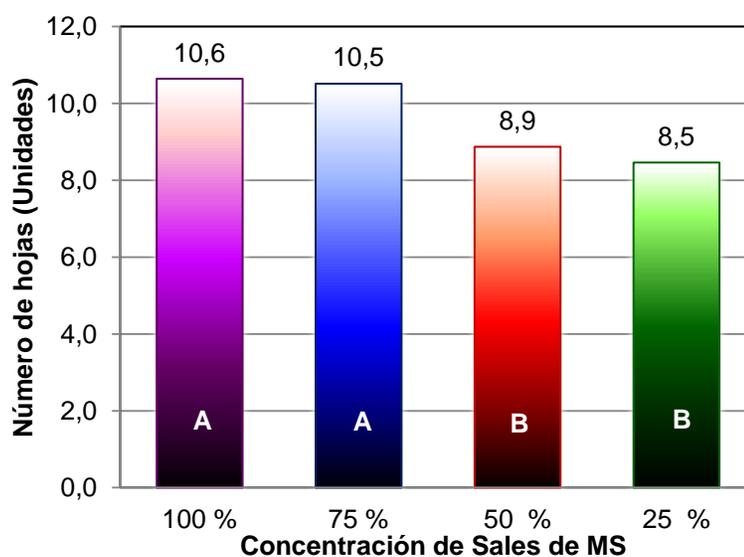


Figura 32. Comparación de media de número de hojas de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Realizado la prueba de Duncan (Figura 32) respecto a las concentraciones de MS utilizadas, se observó la agrupación en dos niveles: La concentración de sales de MS al 100% (A), 75% (A) en el medio de cultivo alcanzaron a tener 10,6 hojas, 10,5 hojas respectivamente, estas obtuvieron la mayor cantidad de hojas, sin embargo las concentraciones de sales de MS al 50% (B) y al 25% (A), alcanzaron a tener la menor cantidad de hojas con 8,9 y 8,5 hojas.

Al respecto Pierik (1990), indica que la mezcla de macro y microsales que se debe elegir, depende mucho de la planta con la que se trabaja, además indica que la concentración total puede ser un factor muy importante y determinante en la formación de las hojas.

En la Figura 33 se observa que existen diferencias significativas entre los tratamientos donde el T1, T2 son los que tienen mayor cantidad de hojas que corresponden al ecotipo Luk'i en concentraciones de sales MS al 100% y 75%, esto indica que las concentraciones de sales MS inferiores al 75% reducen notablemente en el desarrollo de las hojas en los tres ecotipos en estudio. Al respecto Enriquez del Valle (2005) menciona que la formación de hoja en *Agave angustifolia* en condiciones *in vitro* se reduce al disminuir las concentraciones de sales MS.

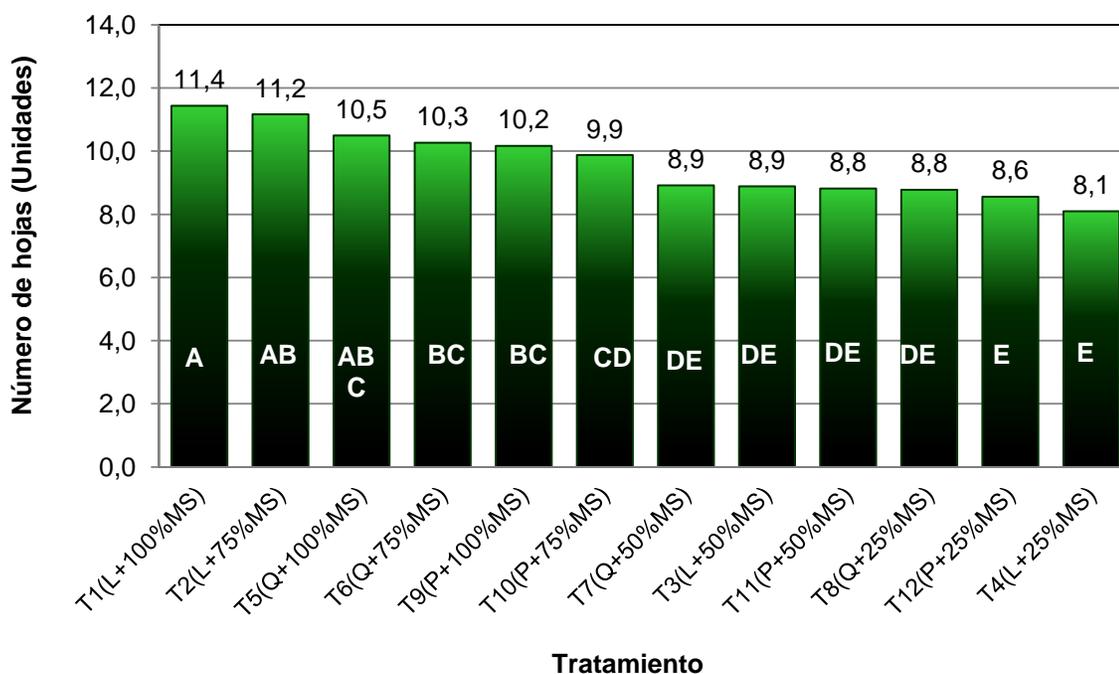


Figura 33. Comparación de media de número de hojas de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

4.1.3.4. Coeficiente de multiplicación

Según la prueba de medias de Duncan (Figura 34), reportó la existencia de diferencias significativas en la variable coeficiente de multiplicación entre los tres ecotipos, esta

prueba de medias agrupa en dos niveles. El ecotipo Luk'i (A) con un coeficiente de multiplicación de 6,2 supera ampliamente a los ecotipos Q'aysalla (B) y Pirinkayo (B) con coeficientes de multiplicación de 5,6 y 5,4 respectivamente.

Realizado la prueba de medias de Duncan (Figura 35), reporta diferencias estadísticas significativas en el variable coeficiente multiplicación con la aplicación de diferentes concentraciones de sales de MS, en este análisis se evidencia la agrupación en dos niveles (A y B).

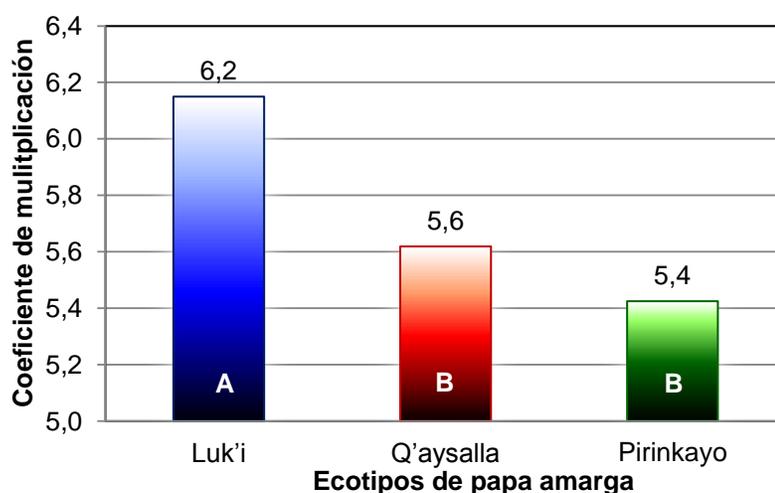


Figura 34. Comparación de coeficiente de multiplicación de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

El primer grupo estuvo conformado por las concentraciones de sales de MS al 100% (A), 50% (A) con coeficientes de multiplicación 6,8 y 6,5 correspondientemente. En cambio el segundo grupo fue conformado por las concentraciones de sales de MS al 50% seguida de 25% cada una coeficientes de multiplicación de 5,0 y 4,5 respectivamente

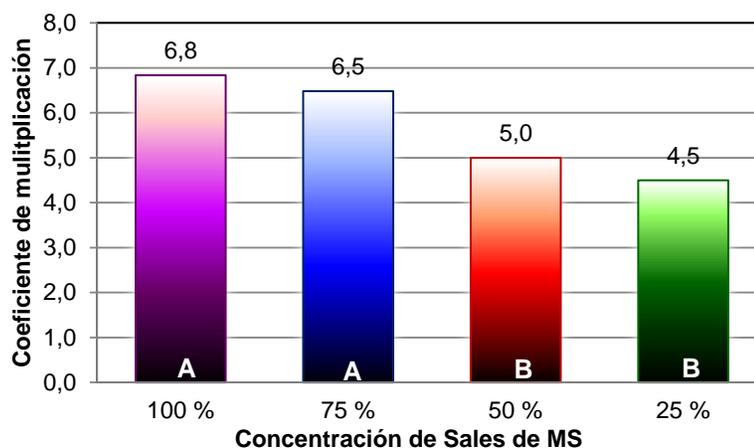


Figura 35. Comparación de media de coeficiente de multiplicación de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

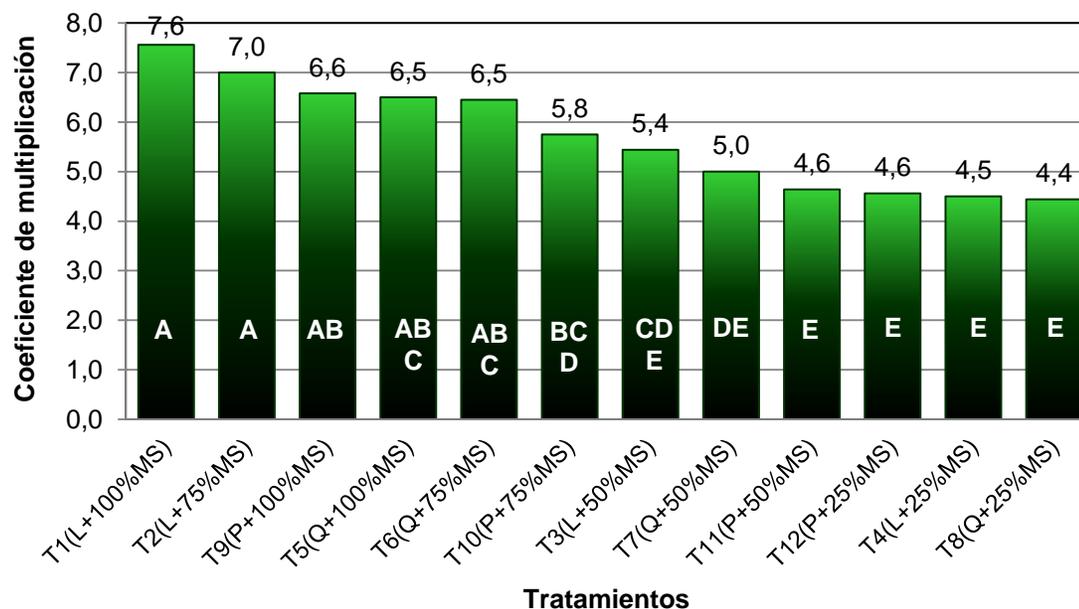


Figura 36. Comparación de media de coeficiente de multiplicación de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Como se observa en la Figura 36 los tratamientos T1, T2, T9, T5 y T6 forma un grupo según la prueba de Duncan ($P < 0,05$) tienen coeficientes altos de multiplicación en relación al resto de tratamientos en estudio, resaltar que el ecotipo Luk'i muestra un material que se puede multiplicar con más rapidez.

4.1.3.5. Longitud de raíz

En el Análisis de varianza (Figura 37) realizado, se evidenció la no existencia de diferencias significativas ($P > 0,05$) en la variable longitud de raíz entre los tres ecotipos en estudio.

Realizado la prueba de medias de Duncan (Figura 38) para la variable de longitud de raíz se ha detectado diferencias significativas entre las concentraciones de sales de MS formando dos grupos.

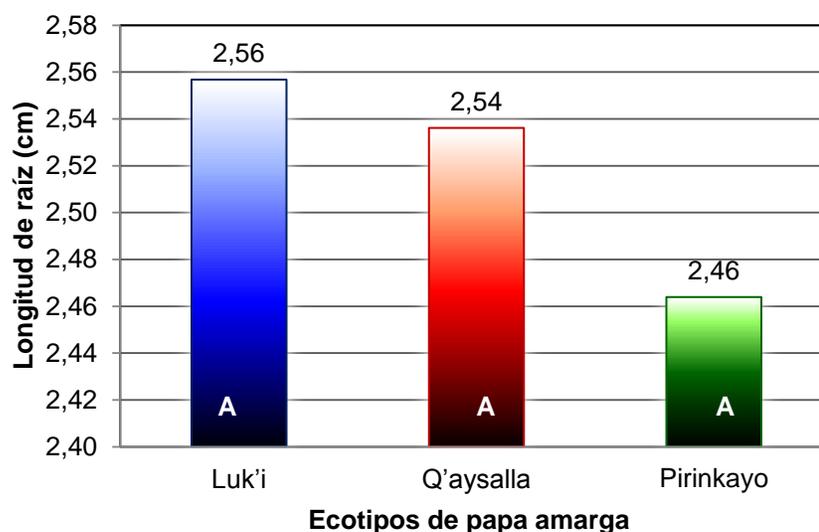


Figura 37. Comparación de media de longitud de raíz de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

El primer grupo estuvo conformado por las concentraciones de sales de MS al 25% (A), 50% (A) y 100% (A) con 2,7 cm, 2,6 cm, y 2,5 cm, las cuales superaron a la concentración al 100% que se quedó con una longitud de raíz de 2,2 cm. Al respecto Jiménez (1990) menciona que la reducción de las sales minerales se usa ampliamente en la estimulación de las raíces hasta concentraciones de un cuarto y concentraciones más bajas afectan el desarrollo de vitroplantas.

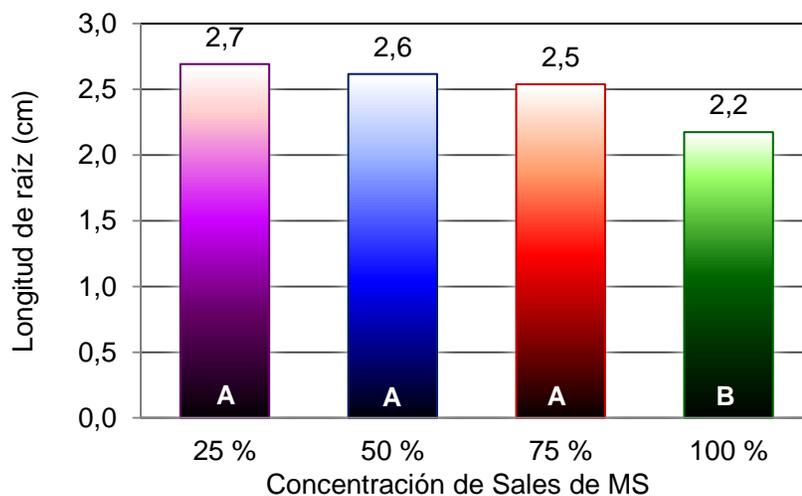


Figura 38. Comparación de media de longitud de raíz de cuatro concentraciones de sales de MS de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Los tratamientos (Figura 39) que alcanzaron la mayor longitud de raíces fueron T4, T10, T11, T7 que la mayoría de estos tienen concentraciones inferiores al 75%. Esto nos indica claramente que al reducir las concentraciones de sales MS se incrementa la longitud de la raíz en los tres ecotipos en estudio. Sin embargo concentraciones al 100% se reduce el desarrollo de las raíces en los Luk'i, Pirinkayo y Q'aysalla (T5, T1, T9).

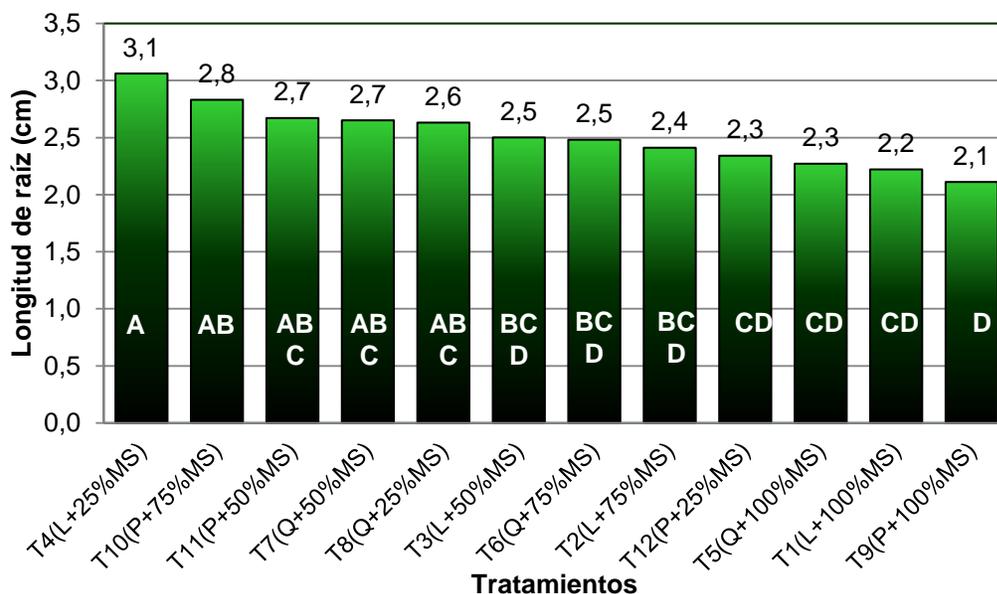


Figura 39. Comparación de media de la longitud de raíz de tres ecotipos de papa amarga (L=Luk'i, Q=Q'aysalla y P=Pirinkayo) en tres concentraciones de sales MS en condiciones *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

4.1.4. Análisis de correlación simple

La matriz de correlación simple entre cada par de variables cuantitativas se presenta en la Tabla 6, los diez coeficientes analizados, fueron altamente significativos ($P < 0,001$).

La correlación más alta correspondió a la variable número de hojas y número de nudos ($r = 0,96$), esta asociación nos indica que al incrementar el número de nudos, también incrementa el número de hojas.

La variable altura de planta está altamente correlacionada con el número de nudos ($r = 0,80$); número de hojas ($r = 0,77$); coeficiente de multiplicación ($r = 0,77$) y longitud de raíz ($r = -0,49$). Esta correlación nos revela que al incrementar el altura, las vitroplantas tienden a un mayor desarrollo en el número de nudos, número de hojas y aumenta las posibilidades de un mayor tasa de propagación al incrementar el coeficiente de multiplicación. Sin embargo, existe una correlación negativa de longitud de raíz con respecto a las variables altura de vitroplanta ($r = -0,49$), número de nudos ($r = -0,60$), número de hojas ($r = -0,61$) y coeficiente de multiplicación ($r = -0,59$), estas correlaciones negativas indican que el mayor desarrollo de las raíces impide el incremento de las variables mencionadas.

Tabla 6. Valores de los coeficientes de correlación (r) de las variables cuantitativas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de Sales de MS (1962), evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

VARIABLES CUANTITATIVAS	AV	NN	NH	CM	LR
Altura de vitroplanta	1				
Número de nudos	0,80**	1			
Número de Hojas	0,77**	0,96**	1		
Coefficiente de multiplicación	0,77**	0,93**	0,90**	1	
Longitud de raíz	-0,49**	-0,60**	-0,61**	-	1
				0,59**	

* La correlación es significativa al nivel 0,05%, ** La correlación es significativa al nivel 0,01%.

Por otra parte haciendo una análisis general y de acuerdo a los datos que se muestran en la matriz (tabla 5), se observa también correlaciones altamente positivas entre el número de hojas con el coeficiente de multiplicación ($r = 0,90$) lo cual revela que a mayores número de hojas se traducen en mayores coeficientes de multiplicación. Por

otra parte la variable número de hojas se asocia con longitud de raíz ($r = -0,90$) implicando que mayor cantidad de número hojas de las vitroplantas conduce a la tenencia de menor longitud de raíz.

4.2. Análisis de variables cualitativas

4.2.1. Prueba de Chi cuadrado

4.2.1.1. Grado de enraizamiento y tamaño de hoja

Se realizó la prueba de Chi cuadrado (Figura 40), lo cual muestra una relación significativa entre el tamaño de hoja y el grado de enraizamiento ($\chi^2 = 47,209$, $P = 0.000$). Para las vitroplantas que tienen raíz principal desarrollada, el 37,7% presentaron hojas medianas, el 29,5% presentaron hojas grandes, siendo predominantes estas variables en relación a la hoja pequeña, es decir para tener un buen desarrollo de las hojas requerirá vitroplantas con raíz principal desarrollada.

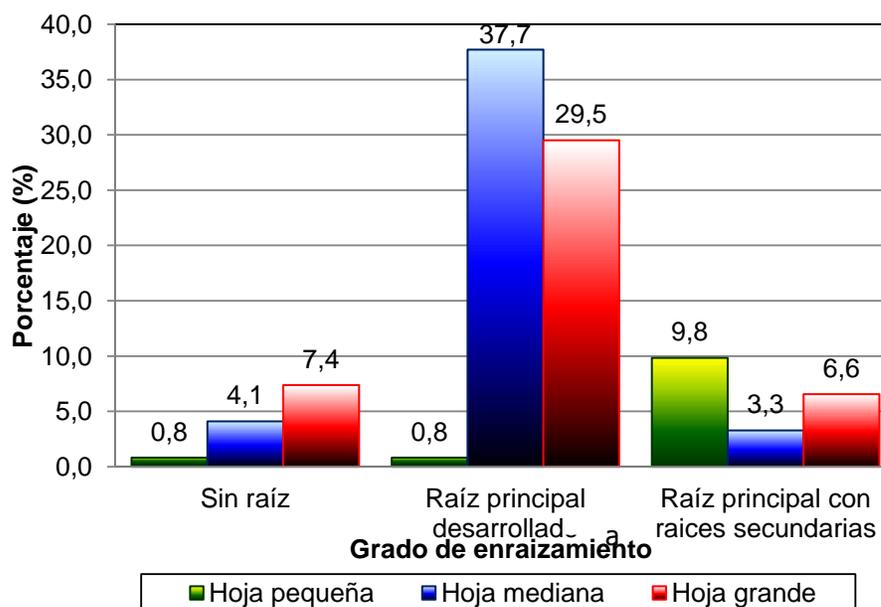


Figura 40. Porcentaje de tamaño de hoja de acuerdo al grado de enraizamiento de vitroplantas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

.En relación a las vitroplantas que desarrollaron raíces secundarias el 9,8% presentaron hojas pequeñas, seguidas de las hojas grandes con un 6,6% . Finalmente se observó pocas vitroplantas que desarrollaron raíces principalmente hojas grandes.

4.2.1.2. Tamaño de hoja y presencia de raíz

Los resultados de la Figura 41 muestra la existencia de diferencias en el grado de enraizamiento y presencia de raíces, siendo el valor de Chi cuadrado significativo ($X^2=122,0$ y $P=0,000$), en las vitroplantas que desarrollaron raíces se observó que el 68% de las vitroplantas presentaron raíces principales, siendo la característica de las vitroplantas de variedades de papa amarga, seguidas de 19,7% de raíces de principales con raíces secundarias y un 12,3% no presentaron raíz alguna.

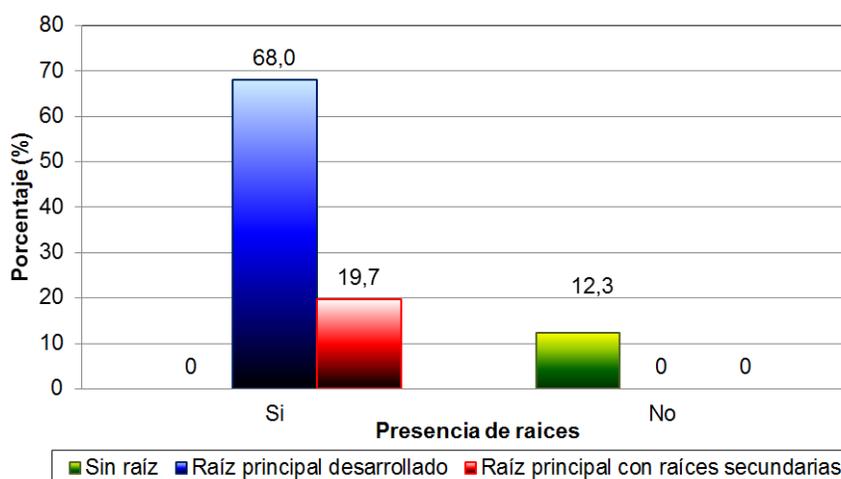


Figura 41. Porcentaje del grado de enraizamiento de acuerdo a la presencia de raíces de vitroplantas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

4.2.1.3. Presencia de raíz y tamaño de hoja

Los resultados de la Chi cuadrada ($X^2=122,0$ $P=0,372$), no muestran la existencia de una significancia (Figura 42) entre presencia de raíces y tamaño de hoja. Sin embargo existe una mayor cantidad de vitroplantas que desarrollaron hojas presentan raíces con predominancia de hojas medianas con 41%. También se puede inferir que existe en menor cantidad vitroplantas que no desarrollaron raíces.

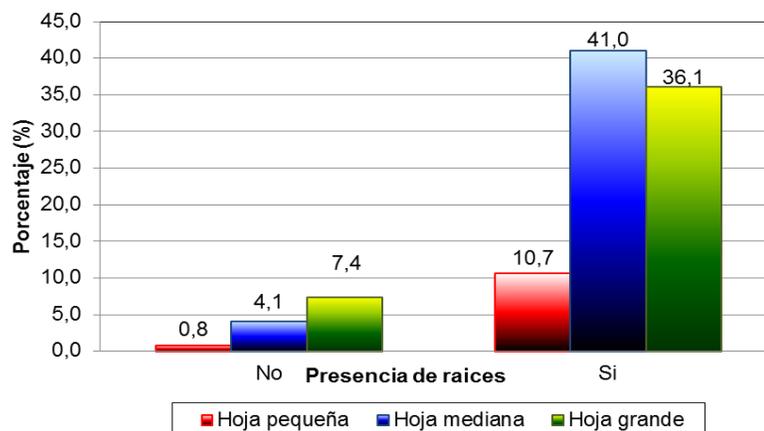


Figura 42. Porcentaje de tamaño de hoja de acuerdo a la presencia de raíces de vitroplantas de tres ecotipos de papa amarga en cuatro concentraciones de MS, evaluados en el Laboratorio de biotecnología Vegetal de la Carrera de Ingeniería Agronómica, UPEA.

4.3. Análisis económico

Se realizó un costo unitario de las Sales de MS incorporadas en el medio de cultivo en 4 distintas concentraciones (100%, 75%, 50% y 25% de MS) con los precios del mercado actual. En la Tabla 7 se puede observar el costo unitario y las diferencias mínimas entre las cuatro concentraciones. Para este análisis el que más aporta con el costo unitario es el Cloruro de Cobalto con 48,79 Bs en relación a otras es la más alta.

De la Tabla 8 se puede inferir, que los costos invertidos en la multiplicación *in vitro*, existe poca diferencia entre las sales de MS aplicados en el medio de cultivo, sin embargo estos datos obtenidos pueden ser relevantes cuando se manejan en volúmenes mayores.

De esta misma tabla se puede evidenciar la diferencia mínima de 953,5339 Bs. el medio con 25% MS, siendo las más bajas en comparación la concentración 100% de MS con 953,5340 Bs., además se puede inferir que los costos son iguales entre las concentraciones 100% de MS con 75% MS.

Tabla 7. Análisis de costos de las sales cuatro concentraciones de MS en tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro* realizados en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

Item	Detalle	Unidad	Cantidad	Costo unitario (Bs)	100% de MS (Bs)	75% MS (Bs)	50% MS (Bs)	25% MS (Bs)
1	Nitrato de Amonio	g	0,0000191860	0,600	0,00001151	0,00000863	0,00000576	0,00000144
2	Nitrato de Potasio	g	0,0000220930	0,570	0,00001259	0,00000944	0,00000630	0,00000157
3	Fosfato Monopotásico	g	0,0000019767	0,659	0,00000130	0,00000098	0,00000065	0,00000016
4	Cloruro de calcio	g	0,0000051163	2,936	0,00001502	0,00001127	0,00000751	0,00000188
5	Sulfato de Magnesio	g	0,0000043023	1,130	0,00000486	0,00000365	0,00000243	0,00000061
6	Ioduro de Potasio	g	0,0000000097	2,031	0,00000002	0,00000001	0,00000001	0,00000000
7	Ácido Bórico	g	0,0000000724	0,708	0,00000005	0,00000004	0,00000003	0,00000001
8	Sulfato de Manganeso	g	0,0000002593	0,888	0,00000023	0,00000017	0,00000012	0,00000003
9	Sulfato de Zinc	g	0,0000001000	0,614	0,00000006	0,00000005	0,00000003	0,00000001
10	Molibdato de Sodio	g	0,0000000029	13,688	0,00000004	0,00000003	0,00000002	0,00000000
11	Sulfato de Cobre	g	0,0000000003	0,512	0,00000000	0,00000000	0,00000000	0,00000000
12	Sulfato Ferroso	g	0,0000003233	0,828	0,00000027	0,00000020	0,00000013	0,00000003
13	EDTA Disódico	g	0,0000004337	1,650	0,00000072	0,00000054	0,00000036	0,00000009
14	Cloruro de Cobalto	g	0,0000000003	48,790	0,00000001	0,00000001	0,00000001	0,00000000
15	Glicina	g	0,0000000233	2,290	0,00000005	0,00000005	0,00000005	0,00000005
16	Tiamina-HCl	g	0,0000000012	18,600	0,00000002	0,00000002	0,00000002	0,00000002
17	Piridoxina-HCl	g	0,0000000058	12,460	0,00000007	0,00000007	0,00000007	0,00000007
18	Acido Nicotínico	g	0,0000000058	2,990	0,00000002	0,00000002	0,00000002	0,00000002
19	Mioinositol	g	0,0000011628	10,140	0,00001179	0,00001179	0,00001179	0,00001179
20	Soluciones tampón pH = 7	ml	8,5230000000	0,568	4,84276860	4,84276860	4,84276860	4,84276860
22	Detergente líquido	ml	200,0000000000	0,024	4,80000000	4,80000000	4,80000000	4,80000000
23	Azúcar	g	2,5800000000	0,005	0,01290000	0,01290000	0,01290000	0,01290000
25	Alcohol	ml	1000,0000000000	0,012	12,00000000	12,00000000	12,00000000	12,00000000
26	Hipoclorito de sodio	ml	100,0000000000	0,025	2,50000000	2,50000000	2,50000000	2,50000000
28	Carragenina	g	0,6880000000	0,200	0,13760000	0,13760000	0,13760000	0,13760000
29	Agua destilada	ml	2000,0000000000	0,005	9,00000000	9,00000000	9,00000000	9,00000000
Total					33,29333	33,29332	33,29330	33,29329

Tabla 8. Análisis económico de la aplicación de cuatro concentraciones de MS en tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Ítem	Detalle	Resumen costos de producción (Bs)			
		100% de MS	75% MS	50% MS	25% MS
1	Material vegetal	30	30	30	30
2	Material de vidrio	21,2	21,2	21,2	21,2
3	Material de metal	14,6	14,6	14,6	14,6
4	Reactivos	33,3	33,3	33,3	33,3
5	Equipos	40,5	40,5	40,5	40,5
6	Otros materiales	66,0	66,0	66,0	66,0
7	Mano de obra	748,0	748,0	748,0	748,0
Costos variables		953,5340	953,5340	953,5339	953,5339
Beneficio bruto		128,00	124,00	128,00	112,00
Beneficio neto		-825,53	-829,53	-825,53	-841,53
Beneficio/costo		0,13	0,13	0,13	0,12

5. CONCLUSIONES

En base a la información analizada en el capítulo de resultados y discusiones, se llega a las siguientes conclusiones:

- De los tres ecotipos de papa amarga estudiados (Luk'i, Q'aysalla y Pirinkayo), el ecotipo Luk'i obtuvo un mejor desarrollo para las variables altura de vitroplanta, número de nudos, número de hojas, coeficiente de multiplicación y mayor longitud de raíz en condiciones *in vitro*.
- De las cuatro concentraciones de sales MS utilizadas en el medio de cultivo en la multiplicación de vitroplantas de papa amarga (Luk'i, Q'aysalla y Pirinkayo), las concentraciones de sales MS al 75% , 100% mostró comportamientos similares para las variables altura de vitroplantas, número de nudos, número de hojas y coeficiente de multiplicación, siendo estas concentraciones adecuadas para la multiplicación *in vitro*.
- Las concentraciones de sales MS al 25%, 50% y 75% muestra mayor longitud de raíz para los ecotipos de papa amarga (Luk'i, Q'aysalla y Pirinkayo).
- El ecotipo Lukí tiene mostró mejores comportamientos en concentraciones de sales MS al 100 y 75% para las variables altura de vitroplantas, número de nudos, número de hojas y coeficiente de multiplicación, seguidas de los ecotipos Q'aysalla, Pirinkayo en concentraciones de sales al 100%.
- El costo de producción relativamente mínima entre las cuatro concentraciones de sales de MS utilizadas en el medio de cultivo, estas pueden mostrar mayor diferencia a medida que se puedan utilizar mayores volúmenes producción de vitroplantas de papa amarga.

6. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se recomienda:

- El uso de sales de MS en el medio de cultivo para la multiplicación *in vitro* de papa amarga reducir hasta un 75% de su concentración, para los tres ecotipos de papa amarga Luk'i, Q'aysalla y Pirinkayo.
- Para obtener mayor desarrollo de raíces se recomienda reducir las concentraciones de sales MS al 75% y 50% en el medio de cultivo.
- Realizar trabajos de optimización en la multiplicación *in vitro* para otros ecotipos de papa amarga pero con mayor control del ambiente.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, G.; Pierre, J. y Leigue, L. 2010. Aplicación del cultivo de tejidos en la multiplicación y conservación de los recursos fitogenéticos. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias, Forestales y Veterinarias. Cochabamba, Bolivia. 200 p.

Alonso, R. y Serrano, A. 1991. Los costos en el proceso de producción agraria. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 147 p.

Ávila, T. 2010. Cultivo de Tejidos Vegetales. Bolivia Ecológica. Primera edición. Cochabamba, Bolivia. 40 p.

Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal (pp. 113-130). Ed. McGRAW-HILL Interamericana. Madrid.

Cámara, O.; Mangas, V.; Garmendia, I. Llopis, A. y Martínez, J. 2003. La nutrición mineral de la papa. Departamento de Producción vegetal y microbiología. Universidad Miguel Hernández. Madrid, España. 8 p.

Cañal, M.; Rodríguez, R.; Fernández, B.; Sánchez, R. y Majada, J. 2001. Fisiología del cultivo *in vitro*. Biotecnología vegetal de la Universidad de Oviedo. España. 9 p.

Calzada, J. 1980. Métodos Estadísticos para la investigación. 3ra edición. Lima, PE. Jurídica. 644 p.

CIP. 2006. Catálogo de variedades de papa nativa. 1ra edición. Huancavelica, Perú. 208 p.

Christiansen, G. J. 1976. Las papas amargas. Fuente de calorías y proteínas en los trópicos fríos de Sudamérica. Lima, Perú. Centro Internacional de la Papa. 13 p.

Ellisseche, D. 2002. La patata. Tecnología de las hortalizas. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp: 67-93.

Enríquez del Valle, J. R.; Carrillo C, Guillermo. 2005. Sales inorgánica y ácido indulbutírico en el Enraizado *in vitro* de brotes de *Agave angustifolia*. ISSN (Revista Mexicana de Fitotecnia). Chapingo, México. Pp: 175-178.

Escala, M y García, E. 1991. Propagación "in vitro" de variedades de *Solanum tuberosum* como método para la obtención de plantas libres de virus. Caracas, Venezuela. 14 p.

Espinoza, N. Estrada, R.; Tovar, P.; Bryan, J. y Dodds, J. 1985. Cultivo de tejidos: conservación y exportación de germoplasma de papa. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 17 p.

Estrada, N. 1992. Importancia Genética de las papas amargas. In la papa amarga. I Mesa redonda: Perú – Bolivia, 7 y 8 de mayo, 1991. La Paz, Bolivia, ORSTOM, 1992. Pp. 11-14.

_____ **2000.** La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa La Paz, PROINPA – CID – CIP. 372 p.

Gómez, E. y Murillo, R. 2001. Adaptabilidad de cinco variedades de papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buck) en diferentes medios de introducción y conservación *in vitro*. Revista Jiltañani. La Paz, Bolivia. Pp: 35-37.

Gómez, 2003. Adaptabilidad de cinco variedades de papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buck) en diferentes medios de introducción y conservación *in vitro*. Tesis de Grado Ingeniería Agronómica, UMSA. La Paz, Bolivia. 123 p.

Huamán, Z. 1990. Botánica sistemática y morfología de la papa. 2 ed. Lima, Perú. Centro Internacional de la Papa. Boletín de información técnica. n° 6. 20 p.

Huanco, V. 1992. Potencial de las papas amargas en el altiplano en el altiplano de Puno. La papa amarga. I Mesa redonda: Perú – Bolivia, 7 y 8 de mayo, 1991. La Paz, Bolivia, ORSTOM, 1992. Pp: 15-23.

Hurtado M, D. y Merino M, M. 1987. Cultivo de tejidos Vegetales. México DF. Editorial TRILLAS. Cuarta reimpresión, 1997. 230 p.

IBTEN. 2010. Desarrollo de investigaciones en biotecnología aplicada a la agricultura sostenible. Adaptabilidad de cinco variedades de papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buck) en diferentes medios de introducción y conservación *in vitro*. La Paz, Bolivia. 21 p.

INE. 2008. Datos estadísticos de la producción agropecuaria en Bolivia. La Paz, Bolivia. 2011. Pp: 24-25

Jiménez, E. 1999. Aplicación de la Biotecnología en la mejora genética de plantas y en la producción de semillas. Propagación masiva de plantas *in vitro*. Módulo 4. Santa Clara, Cuba. Pp: 82.

Little, T. y Hills, J. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Editorial, Trillas, 1ra edición. México D.F. 270 p.

López, C. 2001. Reacciones de hipersensibilidad en plantas cultivadas *in vitro*. Consultado el 14 de agosto de 2011. Disponible en <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/encuentros26/26reacciones.html>.

Melgar, M.; Fernández, J. y Pérez, P. 2006. Propuesta para la implementación del proyecto de semilla de papa certificada, producida en los valles intramontanos de los municipio de Constanza y San José de Ocoa. Instituto Dominicano de Investigación. Santo Domingo, República Dominicana. 30 p. Disponible en www.ilustrados.com.

Murashige, T. and Skoog, 1962. "A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture." *Physiología Plantarum* 15: Pp: 473 – 497.

Mendoza, V. y Gómez, V. 2009. Producción de semilla prebásica de papa de genotipos de papa nativa a partir de cultivos *in vitro* en el altiplano de Bolivia. En encuentro nacional de innovación tecnológica agropecuaria y forestal. La Paz, Bolivia Pp: 8-14

Pacheco, V. y Cinthia, C. 1997. Caracterización preliminar del germoplasma de papa amarga (*Solanum juzepczukii*) de la Estación Experimental de Patacamaya. Tesis de ingeniero agrónomo. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. Pp: 13-35.

Pérez P, J. 1998. Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Editorial Santa Clara. Villa Clara, Cuba. Ediciones GEO. 390 p.

Pérez, B.; Tintaya, L. y Marza, F. 2009. Interrelación de características agronómicas de 24 accesiones de papa amarga (*Solanum tuberosum sp.*) perteneciente a la colección de germoplasma de Agronomía, UPEA. En encuentro nacional de innovación tecnológica agropecuaria y forestal. La Paz, Bolivia Pp: 8-14

Pierik, R.L.M. 1990. Cultivo in vitro de plantas superiores. Department of Horticulture Agricultural University Wageningen, The Netherlands. Madrid, España. 326.

Polimeni, R.; Fabozzi, F. y Adelberg A. 2001. Contabilidad de costos, conceptos y aplicaciones para la toma de decisiones gerenciales. 3ra edición. Santa fé de Bogotá, Colombia. 879 p.

PROINPA. 2001. Papas bolivianas. Catálogo de 100 variedades de papa amarga. Cochabamba, Bolivia. 110 p.

Rea, J. 1992. Vigencia de las papa nativas en Bolivia. La papa amarga. I Mesa redonda: Perú – Bolivia, 7 y 8 de mayo, 1991. La Paz, Bolivia, ORSTOM, 1992. Pp: 15-23.

Roca, W. y Mroginski, L. 1991. Cultivo de tejidos en la Agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia. Primera reimpresión, 1993. 970 p.

Rodríguez, S. 2002. Hidroponía: Agricultura y Bienestar. Minerales, macro y micronutrientes. Chihuahua, México. Pp: 47- 49.

Salgado, J. D. 2002. Análisis del costo de producción y evaluación de la tasa de multiplicación *in vitro* de *Rhynchoholaelia digbyana* en Zamorano. Tesis Lic. Agrónomo. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Hoduras. 75 p.

Salues R. y Rocabado C. 1998. Laproducción de semilla prebásica. Unidad de producción de semilla de papa, SEPA. Cochabamba, Bolivia. 30 p.

Sanchez, Y.; Barney, H. y Rosas, A. 2010. Absorción de nutrientes de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) creciendo bajo diferentes condiciones de cultivo *in vitro*. Laboratorio de alta tecnología. Caracas, Venezuela. 9 p.

Saravia, G. 2007. Biodiversidad en papas amargas. AGRUCO. Cochamba, Bolivia. 7 p.

Spooner, D.M., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R. y Bryan, G.J. (2005). A Single Domestication for Potato Based on Multilocus Amplified Fragment Length Polymorphism Genotyping, PNAS, Vol. 102(41).

Tapia, M. 1993. Guía Metodológica para la Caracterización de la Agricultura Andina. La experiencia del proyecto PISCA. IICA-CIID. Cusco, Perú. 143 p.

Trujillo E, A. 2008. Unidad de Producción de Semilla de Papa – SEPA. Cochabamba, Bolivia. 25 p.

Vásquez, V. 1990. Experimentación Agrícola. Primera edición. Editorial, Amaru. Lima, Perú. 274 p.

Vega, C. y Guzman, M. 2005. Propagación *in vitro* de 12 variedades de papa (*Solanum sp*). Para la producción de semilla prebásica. Informe técnico de 2004. Escuela Militar de Ingeniería, EMI. La Paz, Bolivia. 22 p.

Yaguache C., A. 2009. Germinación, brotación y conservación *in vitro* de *Solanum cajanumensis*, kunth (tomate de árbol silvestre). Tesis de grado de la Escuela de Ciencias Agropecuarias Ingeniería Agropecuaria de la Universidad Católica de Loja. Loja, Ecuador. 59 p.

Zeballos, H.; Balderrama, F.; Condori, B. y Blajos, J. 2009. Economía de la Papa en Bolivia (1991 y 2007). Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia. 129 p.

ANEXOS

Anexo 19. Sales minerales y constituyentes orgánicos del medio basal de MS.

COMPONENTE	REACTIVO	CONCENTRACIÓN AL 100% mg*L ⁻¹
MACRONUTRIENTES		
NH ₄ NO ₃	Nitrato de Amonio	1650.00
KNO ₃	Nitrato de Potasio	1900.00
KH ₂ PO ₄	Fosfato Monopotásico	170.00
CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio	440.00
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Magnesio	370.00
MICRONUTRIENTES		
KI	Ioduro de Potasio	0.83
H ₃ BO ₃	Acido Bórico	6.20
MnSO ₄ .H ₂ O	Sulfato de Manganeso	22.30
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Zinc	8.60
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de Sodio	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato de Cobre	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato Ferroso	27.80
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	EDTA Disódico	37.30
CoCl ₂ .6H ₂ O	Cloruro de Cobalto	0.025
AMINOACIDOS		
C ₂ H ₅ NO ₂	Glicina	2.00
VITAMINAS		
C ₁₂ H ₁₇ CIN ₄ O ₅ .HCl	Tiamina-HCl	0.10
C ₈ H ₁₁ NO ₃ .HCl	Piridoxina-HCl	0.50
C ₆ H ₅ NO ₂ .HCl	Acido Nicotínico	0.50
C ₆ H ₁₂ O ₆	Mioinositol	100.00
ADITIVOS		
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Sacarosa	30.00 g*l ⁻¹
	Agar	6.50 g*l ⁻¹
	PH	5.7

Anexo 2. Concentraciones de cuatro concentraciones de MS en el medio de cultivo.

Componente	Reactivo	Concentración al 100%mg*l-1	Concentración al 75% mg*l-1	Concentración al 50% mg*l-1	Concentración al 25% mg*l-1
SALES MINERALES					
NH ₄ NO ₃	Nitrato de Amonio	1650,00	1237,50	825,00	412,50
KNO ₃	Nitrato de Potasio	1900,00	1425,00	950,00	475,00
KH ₂ PO ₄	Fosfato Monopotásico	170,00	127,50	85,00	42,50
CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio	440,00	330,00	220,00	110,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Magnesio	370,00	277,50	185,00	92,50
KI	Ioduro de Potasio	0,83	0,62	0,42	0,21
H ₃ BO ₃	Acido Bórico	6,20	4,65	3,10	1,55
MnSO ₄ .H ₂ O	Sulfato de Manganeso	22,30	16,73	11,15	5,58
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Zinc	8,60	6,45	4,30	2,15
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de Sodio	0,25	0,19	0,13	0,06
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato de Cobre	0,03	0,02	0,01	0,01
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato Ferroso	27,80	20,85	13,90	6,95
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	EDTA Disódico	37,30	27,98	18,65	9,33
CoCl ₂ .6H ₂ O	Cloruro de Cobalto	0,03	0,02	0,01	0,01
AMINOACIDOS					
C ₂ H ₅ NO ₂	Glicina	2.00	2.00	2.00	2.00
VITAMINAS					
C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ O ₅ .HCl	Tiamina-HCl	0.10	0.10	0.10	0.10
C ₈ H ₁₁ NO ₃ .HCl	Piridoxina-HCl	0.50	0.50	0.50	0.50
C ₆ H ₅ NO ₂ .HCl	Acido Nicotínico	0.50	0.50	0.50	0.50
C ₆ H ₁₂ O ₆	Mioinositol	100.00	100.00	100.00	100.00
ADITIVOS					
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Sacarosa	30.00 g/L	30.00 g/L	30.00 g/L	30.00 g*l ⁻¹
	Carragenina	6.50 g/L	6.50 g/L	6.50 g/L	6.50 g*l ⁻¹
	PH	5.7	5.7	5.7	5.7

Anexo 3. Preparación de soluciones stock

Soluciones Stock “A”: Macronutrientes

- Por separado pesar y diluir con agua destilada estéril (20 ml) las cuatro sales, una vez diluida verter en un matraz erlenmeyer y enrazar a 100 ml. El cual llegaría a estar a una concentración de 100X lo que indica que alcanza para 10 L de medio de cultivo.
- Posteriormente se procede a guardarlo en un frasco ámbar y rotularlo (guardarlo refrigerado).

Soluciones Stock “B”: Micronutrientes

- Los componentes de esta solución son siete sales, de las cuales cuatro sales (ioduro de potasio, molibdato de sodio, sulfato de cobre y cloruro cobaltoso) son cantidades muy pequeñas, por lo tanto proceder a preparar cada una su solución. De cada una de las sales pesar 20 mg de sal requerido y diluir en 20 ml pesar de esta manera para las cuatro sales y guardarlas en frascos ámbar.
- Las demás tres sales (ácido bórico, sulfato de manganeso y sulfato de zinc) son cantidades mayores, por separado pesar y diluir con agua destilada estéril (10 ml).
- Una vez diluida las tres sales verter en un matraz erlenmeyer y de cada frasco ámbar pipetear la cantidad requerida (mg=ml), posteriormente enrazar a 100 ml. El cual llegaría a estar a una concentración de 100X lo que indica que alcanza para 10 L de medio de cultivo.
- Posteriormente se procede a guardarlo en un frasco ámbar y rotularlo (guardarlo refrigerado).

Soluciones Stock “C”: Fuente de calcio

- Comprende solo una sal, de la misma manera pesar y diluir en agua destilada estéril y enrazar a 100 ml. El cual llegaría a estar a una concentración de 100X lo que indica que alcanza para 10 L de medio de cultivo.

- Posteriormente se procede a guardarlo en un frasco ámbar y rotularlo (guardarlo refrigerado).

Soluciones Stock “D”: Quelatos de hierro

- Comprende de dos sales (sulfato ferroso y EDTA), de la misma manera por separado pesar y diluir en agua destilada estéril (20 ml) y mezclar el sulfato sobre el EDTA enrazar a 100 ml y calentar hasta que se vuelva amarillo. El cual llegaría a estar a una concentración de 100X lo que indica que alcanza para 10 L de medio de cultivo.
- Posteriormente se procede a enfriar y guardarlo en un frasco ámbar con su respectivo rotularlo (guardarlo refrigerado).

Soluciones Stock “E”: Vitaminas

- Comprende de cinco sales, de las cuales cuatro sales (tiamina, piridoxina, ácido nicotínico y glicina) son cantidades muy pequeñas, por lo tanto proceder a preparar cada una su solución. De cada una de las sales pesar 20 mg de sal requerido y diluir en 20 ml pesar de esta manera para las cuatro sales y guardarlas en frascos ámbar.
- En un matraz erlenmeyer diluir el myo-inositol y de cada frasco ámbar pipetear la cantidad requerida (mg=ml), posteriormente enrazar a 100 ml. El cual llegaría a estar a una concentración de 100X lo que indica que alcanza para 10 L de medio de cultivo.
- Posteriormente se procede a guardarlo en un frasco ámbar y rotularlo (guardarlo congelado).

Anexo 4. Comparación de media de altura de vitroplanta de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Ecotipos de papa amarga	Altura de vitroplanta	Significación
Luk'i	6,69	a
Pirinkayo	6,02	b
Q'aysalla	5,11	c

Anexo 5. Comparación de media de altura de vitroplanta de papa amarga en cuatro concentraciones de sales de MS, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Concentraciones de sales de MS	Altura de vitroplanta	Significación
75 %	7,0	a
100 %	6,6	a
50 %	5,3	b
25 %	4,7	c

Anexo 6. Comparación de media de número de nudos de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Ecotipos de papa amarga	Número de nudos	Significación
Luk'i	8,3	a
Q'aysalla	7,8	b
Pirinkayo	7,5	b

Anexo 7. Comparación de media de número de nudos de papa amarga en cuatro concentraciones de sales de MS, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Concentraciones de sales de MS	Número de nudos	Significación
100 %	8,7	a
75 %	8,6	a
50 %	7,2	b
25 %	6,8	b

Anexo 8. Comparación de media de número de hojas de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Ecotipos de papa amarga	Número de hojas	Significación
Luk'i	10,0	a
Q'aysalla	9,6	b
Pirinkayo	9,4	b

Anexo 9. Comparación de media de número de hojas de papa amarga en cuatro concentraciones de sales de MS, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Concentraciones de sales de MS	Número de hojas	Significación
100 %	10,6	a
75 %	10,5	a
50 %	8,9	b
25 %	8,5	b

Anexo 10. Comparación de media de coeficiente de multiplicación de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Ecotipos de papa amarga	Coefficiente de multiplicación	Significación
Luk'i	6,2	a
Q'aysalla	5,6	b
Pirinkayo	5,4	b

Anexo 11. Comparación de media de coeficiente de multiplicación de papa amarga en cuatro concentraciones de sales de MS, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Concentraciones de sales de MS	Coefficiente de multiplicación	Significación
100 %	6,8	a
75 %	6,5	a
50 %	5,0	b
25 %	4,5	b

Anexo 12. Comparación de media de longitud de raíz de tres ecotipos de papa amarga *in vitro*, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Ecotipos de papa amarga	Longitud de raíz	Significación
Luk'i	2,56	a
Q'aysalla	2,54	a
Pirinkayo	2,46	a

Anexo 13. Comparación de media de coeficiente de multiplicación de papa amarga en cuatro concentraciones de sales de MS, según la prueba de Duncan. Los promedios con letras iguales no son diferentes ($P < 0,05$).

Concentraciones de sales de MS	Longitud de raíz	Significación
25 %	2,7	a
50 %	2,6	a
75 %	2,5	a
100 %	2,2	b

Anexo 14. Análisis de costos de equipos utilizados en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Item	Equipo de laboratorio	Costo unitario	Vida útil	Depreciación (Años)	Depreciación mensual (30 días)
1,0	Autoclave	236,4	15,0	15,8	2,2
2,0	Cámara de flujo laminar	1017,2	15,0	67,8	9,3
3,0	Potenciómetro	200,6	8,0	25,1	3,4
4,0	Agitador magnético	1,0	8,0	0,1	0,0
5,0	Balanza analítica	640,0	12,0	53,3	7,3
6,0	Cámara de crecimiento	2000,0	15,0	133,3	18,3
Total				295,4	40,5

Anexo 15. Análisis de materiales adicionales utilizados en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Item	Detalle	Unidad	Cantidad	Costo unitario (Bs)	Subtotal (Bs)
1	Papel de madera	Hoja	1	1,0	1
2	Papel aluminio	Rollo	1	12,0	12
3	Atomizador	Pieza	2	4,0	8
4	Pizeta	Pieza	1	10,0	10
5	Algodón	Bolsa	1	2,5	2,5
6	Bolsa plástica	Paquete	1	2,0	2
7	Marcador indeleble	Pieza	1	3,5	3,5
8	Toallas de papel	Rollo	1	6,0	6
9	Bandeja	Pieza	1	11,0	11
10	Regla metálica	Pieza	1	5,0	5
11	Plastoformo	Lámina	2	3,0	6
Total					67

Anexo 16. Análisis de costos de mano de obra en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

ITEM	Detalle	Unidad	Cantidad	Costo unitario (Bs)	Subtotal (Bs)
1	Limpieza de ambientes de laboratorio	Hora	4	22	88
2	Lavado de materiales	Hora	4	22	88
3	Preparación de medio de cultivo	Hora	6	22	132
4	Multiplicación de vitroplantas	Hora	4	22	88
5	Toma de datos	Hora	20	22	440
Total					836

Anexo 17. Análisis de costos de material de vidrio utilizados en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Item	Detalle	Unidad	Cantidad	Costo unitario (Bs.)	Subtotal (Bs.)
1	Tubos de ensayo	Piezas	156	0,0	2,6
2	Vaso precipitado (1000 ml)	Piezas	4	1,3	5,0
3	Vaso precipitado (100 ml)	Piezas	2	0,4	0,8
4	Cajas petri	Piezas	4	0,3	1,3
5	Frascos de vidrio (250 ml)	Piezas	6	0,0	0,2
6	Frascos ámbar	Piezas	4	0,1	0,2
7	Pipetas	Piezas	4	0,3	1,3
8	Probetas	Piezas	4	1,4	5,7
9	Matraz Erlenmeyer	Piezas	4	1,0	4,0
Total					21,2

Anexo 18 . Análisis de costos de material metálico utilizados en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Item	Detalle	Unidad	Cantidad	Costo unitario	Subtotal
1	Mangos de bisturí	Pieza	2	0,3	0,6
2	Hojas de bisturí	Pieza	4	0,1	0,5
4	Papel de aluminio (Rollo de 12 m)	Pieza	1	12,0	12,0
5	Pinzas	Pieza	1	0,3	0,3
6	Mechero de alcohol	Pieza	2	0,5	1,1
Total					14,6

Anexo 19. Resumen de costos en la multiplicación de tres ecotipos de papa amarga en condiciones *in vitro*.

Item	Detalle	Resumen de Costos			
		100% de MS	75% MS	50% MS	25% MS
1	Material vegetal	40	30	30	30
2	Material de vidrio	21,2	21,2	21,2	21,2
3	Material de metal	14,6	14,6	14,6	14,6
4	Reactivos	33,3	33,3	33,3	33,3
5	Equipos	40,5	40,5	40,5	40,5
6	Otros materiales	67,0	67,0	67,0	67,0
7	Mano de obra	836,0	836,0	836,0	836,0
Total		1052,5	1042,5	1042,5	1042,5

Anexo 20. Resumen de estadístico descriptivo de los tres ecotipos de papa amarga *in vitro*.

Ecotipo	Estadísticos	Variables				
		AV	NN	NH	CM	LR
Luk'i	Media	6,69	8,28	9,95	6,15	2,56
	Desv. típ.	1,45	1,58	1,84	1,64	0,46
	Mínimo	4,25	5,00	6,00	3,00	1,70
	Máximo	9,60	12,00	14,00	10,00	3,20
	Rango	5,35	7,00	8,00	7,00	1,50
	Varianza	2,11	2,51	3,38	2,69	0,21
Pirinkayo	Media	6,02	7,50	9,38	5,43	2,46
	Desv. típ.	1,17	1,30	1,21	1,45	0,59
	Mínimo	3,80	5,00	7,00	3,00	1,20
	Máximo	8,40	10,00	11,00	8,00	3,30
	Rango	4,60	5,00	4,00	5,00	2,10
	Varianza	1,37	1,69	1,47	2,10	0,35
Q'aysalla	Media	5,11	7,79	9,62	5,62	2,54
	Desv. típ.	1,34	1,28	1,36	1,38	0,35
	Mínimo	3,00	6,00	7,00	3,00	1,60
	Máximo	8,80	10,00	12,00	9,00	3,20
	Rango	5,80	4,00	5,00	6,00	1,60
	Varianza	1,80	1,64	1,85	1,90	0,12