

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase de laboratorio.

4.1.1. Experimento 1

Efecto de diferentes tipos de tapas y tipos de explante en tres variedades en el crecimiento de papa *in vitro*.

En los cuadros 8, 9 y 10, se presentan los análisis de varianza de un diseño completamente al azar con arreglo factorial, respectivamente para las variables longitud de la planta de papa *in vitro*, número de entrenudos y número de brotes laterales en las variedades Atlantic, Gigant y Clon 5175. En los resultados se aprecia que existió diferencia significativa entre variedades, tipos de tapas y tipo de explante en forma independiente; sin embargo, para el caso de las interacciones, solo se presentó diferencia significativa para variedades por tipo de tapa para las tres variables evaluadas, sin encontrar diferencia estadística entre las otras interacciones evaluadas.

Por lo anterior, se procedió a las comparaciones de medias para las variables longitud de la planta *in vitro*, mediante la prueba de DMS protegida de Fisher (Steel y Torrie 1982), para los tipos de tapas dentro de variedades y para el factor tipo de explante.

La diferencia estadística entre variedades por tipos de tapa pudo ser casa del efecto de luminosidad que recibieron las plantulas en el corto periodo de incubación.

Cuadro No. 8 análisis de varianza de la longitud de la planta *in vitro* en cm. FAUANL, Marín, N. L. , 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Variedades	2	3650.68	1825.33	8.42	0.001
Tapas explante	3	6956.62	2318.88	10.70	0.000
	2	6293.40	3146.70	14.53	0.000
Variedades x Tapas	6	3123.27	520.54	2.40	0.035
Variedades x explantes	4	290.1	72.52	0.33	0.854
Tapas x Explantes	6	1771.20	295.20	1.37	0.240
Variedades x Tapas x explantes	12	1167.04	97.25	0.44	0.937
Error	72	15592.70	216.57		
Total	107	38845.0			

Cuadro No. 9 Análisis de varianza de número de brotes laterales de la planta *in vitro*. FAUANL, Marín, N. L. , 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Variedades	2	57.40	28.70	9.93	0.00
Tapas explante	3	61.51	20.50	7.10	0.001
	2	52.46	26.23	9.1	0.001
Variedades x Tapas	6	44.37	7.40	2.55	0.026
Variedades x explantes	4	19.48	4.88	1.67	0.162
Tapas x Explantes	6	3.98	0.66	0.22	0.965
Variedades x Tapas x explantes	12	40.97	3.41	1.19	0.312
Error	72	208.00	2.89		
Total	107	488.18			

Cuadro No. 10. Análisis de varianza para número de entrenudos de la planta *in vitro*. FAUANL, Marín, N. L. , 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Variedades	2	51.47	25.73	8.65	0.001
Tapas explante	3	66.78	22.25	7.49	0.000
	2	107.85	53.92	18.14	0.000
Variedades x Tapas	6	48.39	8.06	2.71	0.020
Variedades x explantes	4	21.38	5.34	1.80	0.138
Tapas x Explantes	6	4.89	0.81	0.28	0.947
Variedades x Tapas x explantes	12	51.44	4.29	1.44	0.167
Error	72	213.10	2.98		
Total	107	566.19			

Longitud de la planta *in vitro*.

En los Cuadros 11 y 12, se presentan las comparaciones de medias para esta variable, respectivamente para la interacción tapas x variedades y para los tipos de explantes.

En el Cuadro 11, se observa que la tapa de polietileno fué estadísticamente superior al resto de las tapas en las variedades Atlantic y Gigant y estadísticamente igual a la tapa Klean Pack pero superior a las tapas convencionales verde y blanca para el caso del Clon 5175.

En el Cuadro 12, se presenta la comparación de medias para esta variable entre los tipos de explantes, observándose que el explante apical fué el que estadísticamente presentó la longitud de la planta *in vitro* más grande seguido en forma decreciente y estadísticamente los explante medio y basal.

Brotos laterales de la planta *in vitro*.

En los Cuadros 13 y 14, se presentan las comparaciones de medias para esta variable, respectivamente para la interacción tapas x variedades y para los tipos de explantes.

En el Cuadro 13, se observa que la tapa de polietileno fué estadísticamente superior al resto de las tapas en la variedad Atlantic, para el caso de la variedad Gigant fue estadísticamente igual a las demás tapas con excepción de la tapa convencional de color verde. Para el Clon 5175 fue numéricamente superior la tapa de Klean Pack, pero todas fueron estadísticamente iguales.

En el Cuadro 14, se presenta la comparación de medias para esta variable entre los tipos de explantes, observándose que el explante apical fué el que estadísticamente presentó la mayor longitud de la planta *in vitro* seguido por los explantes medio y basal que estadísticamente fueron iguales.

Cuadro No. 11. Efecto de cuatro tipos de tapa sobre la longitud de la planta *in vitro*. dentro de tres variedades de papa. FAUANL, Marín ,N. L., 1997.

ATLANTIC		GIGANT		CLON 5175	
Tipo de Tapas	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.
Polietileno Verde	53.44 a	Ploietileno verde	53.44 a	Cleean Pack	58.00 a
Kleean Pack	30.44 b	Cleean Pack	30.44 b	Ploietileno	49.22 ab
Blanca	30.00 b	Blanca	30.00 b	Verde	42.67 b
	26.33 b		26.33 b	Blanca	39.67 b
DMS 0.05	16.89				

Cuadro No. 12. Efecto del tipo de explante en la siembra *in vitro* sobre longitud de la planta *in vitro*. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

Tipo de explante	Media
Apical	48.05 a
Medio	40.02 b
Basal	29.41 c

DMS 0.05=6.89

Cuadro No. 13. Efecto de cuatro tipos de tapa sobre el número de brotes laterales de la planta *in vitro*. dentro de tres variedades de papa. FAUANL, Marín ,N. L., 1997.

ATLANTIC		GIGANT		CLON 5175	
Tipo de Tapas	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.
Polietileno Verde	6.11 a	Ploietileno Blanca	3.33 a	Verde	3.11 a
Blanca	3.89 b	Cleean Pack verde	2.78 ab	Ploietileno	2.89 a
Cleean Pack	3.11 b		1.66 ab	Cleean Pack	2.11 a
	2.44 b		1.11 b	Blanca	1.89 a
DMS 0.05	1.95				

Cuadro No. 14. Efecto del tipo de explante en la siembra *in vitro* sobre el número de brotes laterales de la planta de papa *in vitro*. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

Tipo de explante	Media
Apical	3.77 a
Medio	2.75 b
Basal	2.09 b

DMS 0.05=0.796

Número de entrenudos de la planta *in vitro*.

En los Cuadros 15 y 16, se presentan las comparaciones de medias para esta variable, respectivamente para la interacción tapas x variedades y para los tipos de explantes.

En el Cuadro 15, se observa que la tapa de polietileno fué estadísticamente superior al resto de las tapas en la variedad Atlantic, para el caso de la variedad Gigant todas fueron estadísticamente iguales. En el caso del Clon 5175 la tapa de polietileno numéricamente fué mayor pero estadísticamente solo superó a las tapas verde y blanca.

En el Cuadro 16, se presenta la comparación de medias para esta variable entre los tipos de explantes, observándose que el explante apical fué el que estadísticamente presentó la mayor longitud de la planta *in vitro* seguido en forma decreciente de longitud de plántula por los explantes medio y basal.

Cuadro No. 15. Efecto de cuatro tipos de tapa sobre el número de entrenudos de la planta de papa *in vitro*. dentro de tres variedades de papa. FAUANL, Marín, N. L., 1997.

ATLANTIC		GIGANT		CLON 5175	
Tipo de	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.	Tipo de tapa	Long. en cm.
Tapas					
Poliétileno	6.67 a	Blanca	3.77 a	Poliétileno	6.11 a
Verde	4.11 b	Poliétileno	3.44 a	Kleean Pack	5.55 ab
Kleean Pack	4.00 b	Kleean Pack	2.88 a	Verde	3.77 b
Blanca	3.11 b	verde	2.55 a	Blanca	3.55 c
DMS 0.05	1.978				

Cuadro No. 16. Efecto del tipo de explante en la siembra *in vitro* sobre el número de entrenudos de la planta de papa *in vitro*. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

Tipo de explante	Media
Apical	5.38 a
Medio	4.05 b
Basal	2.94 c
DMS 0.05=0.808	

Nota: Tapa 1= Tapa de polietileno de alta densidad

Tapa 2= Tapa marca SIGMA de plástico color verde

Tapa 3= Tapa marca SIGMA color blanco translúcido

Tapa 4= Tapa de plástico transparente marca Klean Pack

4.1.2. Experimento 2.

Efecto del tratamiento químico (fungicida - bactericida) en la siembra *in vitro* en rodajas de papa de la variedad Alfa en la eliminación de contaminantes endógenos.

En la etapa de laboratorio la contaminación tanto del explante como por manejo, es el principal problema para pasar de la etapa de establecimiento aséptico del explante a la etapa de subcultivo de planta *in vitro* sana y bien desarrolladas para proceder a su multiplicación masiva. Con el fin de reducir la contaminación *in vitro* se llevó acabo un experimento en el cual se evaluaron las variables de longitud, número de entrenudos, número de brotes laterales, vigor y formación de raíces de la planta *in vitro*.

En los Cuadros 17, 18 y 19 se presentan los análisis de varianza de un diseño completamente al azar, respectivamente para las variables longitud de las plantas *in vitro*, número de entrenudos y número de brotes laterales dentro de la variedad Alfa.

Los resultados muestran que no existió diferencia estadística para longitud y número de entrenudos de las plantas *in vitro*; sin embargo, para el número de brotes laterales se aprecia una diferencia estadística significativa en el efecto de tratamientos.

Por lo anterior para el caso de número de brotes laterales se procedió a la comparación de medias mediante la prueba DMS protegida de Fisher.

Cuadro No. 17 Análisis de varianza en el diseño completamente al azar en el efecto de la longitud de la planta *in vitro* de papa, en el efecto del tratamiento químico, dentro de la variedad Alfa. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	2	519.18	259.59	1.13	0.332
s					
Error	44	10093.43	229.39		
Total	46	10612.62			
c.v.	18%				

Cuadro No. 18 Análisis de varianza en el diseño completamente al azar en el efecto del número de entrenudos de la planta *in vitro* de papa, en el efecto del tratamiento químico, dentro de la variedad Alfa. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	2	5.53	2.76	1.88	0.163
s					
Error	41	60.19	1.46		
Total	43	65.72			
c.v.	19%				

Cuadro No. 19 Análisis de varianza en el diseño completamente al azar en el efecto del número de brotes laterales de la planta *in vitro* de papa, en el efecto del tratamiento químico, dentro de la variedad Alfa. FAUANL, Marín, N. L. 1997.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	2	43.94	21.97	9.21	0.001
error	41	97.78	2.38		
Total	43	141.72			
c.v.	55%				

En el Cuadro 20 se presentan la comparación de medias donde se nota que el tratamiento de rodajas de papa regadas con agroquímicos es numéricamente superior a los demás, sin embargo, no existió diferencia estadística para las variables de longitud y número de entrenudos, pero para la variable número de brotes laterales existió diferencia estadística entre el tratamiento de siembra tradicional con relación a los dos tratamientos de rodajas y con riegos con agroquímicos y agua estéril respectivamente.

Cuadro No. 20 Comparación de medias en los tres tratamientos dentro de tres variables evaluadas de la planta *in vitro* de papa de la variedad Alfa. FAUANL, Marín, N. L., 1997.

Tratamiento	Media de longitud de brote en cm	Tratamiento	Media de número de entrenudos	Tratamiento	Media de brotes laterales
Rodaja +		Rodaja +		Rodaja +	
Agroquímico	6.73 a	agroquímico	6.72 a	agroquímico	3.72 a
Rodaja+Agua	6.28 a	Rodaja+Agua	6.27 a	Rodaja+Agua	3.33 a
Siembra		Siembra		Siembra	
Tradicional	5.8 a	tradicional	5.8 a	tradicional	1.46 b

Nivel de sig. =0.05

Evaluación de la contaminación *in vitro*.

Se establecieron brotes como explantes en un total de 44 tubos de ensaye, de los cuales 15 tubos con brotes de tubérculo de papa sembrados *in vitro* en la forma tradicional, esto es, desinfectados con hipoclorito de sodio al 15% por un tiempo de 15 minutos y enjuagados con agua estéril y sembrados *in vitro*, 18 fueron sembrados con explantes provenientes de rodajas que se habían regado solo con agua destilada estéril y un desinfección tradicional y sembrados *in vitro*, por ultimo 11 tubos con brotes de rodajas que fueron regados con una solución de fungicida y bactericida y un desinfección de forma tradicional y sembrados *in vitro*. Los tubos contaminados fueron en el primer caso 12 tubos de 18, 14 de 18 en el segundo caso, y 5 de 11 y en el tercer caso lo que representó un 66%, 77% y un 45% respectivamente para los tres tratamientos, sin embargo, de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal -Wallis se obtuvo una estadística de prueba $H=2.0607$ menor que el valor de $X^2=3.84$ por lo que no se rechaza la hipótesis nula de que las tres poblaciones tienen la misma distribución; en consecuencia solo se puede establecer que el riego a las rodajas con una solución de fungicida - bactericida, tiende a reducir la contaminación aunque dicha tendencia no es significativa

4.1.3. Experimento 3

Determinación de la sanidad de las plantas *in vitro* y minitubérculos de papa por medio de la técnica serológica ELISA.

Los resultados del análisis de ELISA de minitubérculos de primera y segunda generación para detectar la presencia de los virus: PVA, PVM, PVS, PVX, PVY y PLRV en plantas *in vitro* y minitubérculos de papa se muestran en los Cuadros No. 15 y 16 en los cuales se puede observar que de acuerdo a los valores de densidad óptica (D.O.) que todas las muestras compuestas para las cuatro variedades y los seis virus analizados resultaron negativos, debido a los valores estimados del umbral basándose en los controles negativos para cada uno de los virus analizados, con excepción de la muestra compuesta cinco para la variedad Atlántic y para el virus PVS que resultó ser positiva; por lo que la muestra positiva fue identificada y se le dio un manejo por separado gracias a que se cuenta con una genealogía de todo el material que es multiplicado a nivel de laboratorio e invernadero.

Cuadro No. 21. Relación de muestras y nivel de absorbancia para los virus PVA, PVM, PVS y PVX. en cuatro variedades de papa mediante ELISA.

PVA		
Variedad	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.080
Atlantic	2	0.075
Atlantic	3	0.090
Atlantic	4	0.072
Atlantic	5	0.060
Atlantic	6	0.071
Atlantic	7	0.068
Herta	8	0.081
Herta	9	0.075
Herta	10	0.065
Herta	11	0.073
Herta	12	0.062
Carola	13	0.059
Carola	14	0.065
Snowden	15	0.071
Blanco	B	0.050
Negativo	(-)	0.07
Positivo	+	0.25
Positivo	(+)	1.2
	Umbral	0.21

PVM		
Variedad	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.075
Atlantic	2	0.065
Atlantic	3	0.060
Atlantic	4	0.059
Atlantic	5	0.065
Atlantic	6	0.071
Atlantic	7	0.069
Herta	8	0.058
Herta	9	0.060
Herta	10	0.065
Herta	11	0.058
Herta	12	0.068
Carola	13	0.071
Carola	14	0.062
Snowden	15	0.055
Blanco	B	0.058
Negativo	(-)	0.06
Positivo	+	0.15
Positivo	(+)	0.98
	Umbral	0.18

PVS		
Variedad	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.065
Atlantic	2	0.068
Atlantic	3	0.059
Atlantic	4	0.064
Atlantic	5	1.60*
Atlantic	6	0.062
Atlantic	7	0.056
Herta	8	0.066
Herta	9	0.059
Herta	10	0.055
Herta	11	0.060
Herta	12	0.065
Carola	13	0.071
Carola	14	0.063
Snowden	15	0.058
Blanco	B	0.045
Negativo	(-)	0.055
Positivo	+	1.2
Positivo	(+)	1.8
	Umbral	0.165

PVX		
Variedad	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.058
Atlantic	2	0.063
Atlantic	3	0.059
Atlantic	4	0.065
Atlantic	5	0.059
Atlantic	6	0.057
Atlantic	7	0.056
Herta	8	0.061
Herta	9	0.054
Herta	10	0.064
Herta	11	0.057
Herta	12	0.056
Carola	13	0.062
Carola	14	0.058
Snowden	15	0.060
Blanco	B	0.044
Negativo	(-)	0.058
Positivo	+	>3.0
Positivo	(+)	>3.0
	Umbral	0.174

* Muestra compuesta positiva para el virus PVS

Cuadro No. 22. Relación de muestras y Nivel de absorbancia para los virus PVY y PLRV en cuatro variedades de papa mediante ELISA.

PVY		
Variedades	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.057
Atlantic	2	0.066
Atlantic	3	0.061
Atlantic	4	0.070
Atlantic	5	0.067
Atlantic	6	0.059
Atlantic	7	0.063
Herta	8	0.065
Herta	9	0.058
Herta	10	0.067
Herta	11	0.058
Herta	12	0.062
Carola	13	0.059
Carola	14	0.062
Snowden	15	0.063
Blanco	B	0.043
Negativo	(-)	0.062
Positivo	+	0.268
Positivo	(+)	0.90
	Umbral	0.186

PLRV		
Variedades	No. de Muestra	Densidad Optica.
Atlantic	1	0.065
Atlantic	2	0.054
Atlantic	3	0.058
Atlantic	4	0.062
Atlantic	5	0.065
Atlantic	6	0.071
Atlantic	7	0.060
Herta	8	0.059
Herta	9	0.057
Herta	10	0.065
Herta	11	0.063
Herta	12	0.057
Carola	13	0.062
Carola	14	0.058
Snowden	15	0.065
Blanco	B	0.046
Negativo	(-)	0.066
Positivo	+	0.220
Positivo	(+)	1.5
	Umbral	0.198

4.2. Fase de invernadero.

4.2.1. Experimento 4.

Producción de minitubérculos a partir de planta *in vitro* envejecida

En el cuadro 23 se presenta el análisis de varianza de un diseño completamente al azar para la variable número de minitubérculos por bolsa de papa de la variedad Alfa. Los resultados indicaron que numéricamente la planta envejecida tipo tallo grueso presentó una tendencia a producir más minitubérculos por bolsa ; sin embargo, no existió diferencia estadística para los tres tipos de plantas.

Por lo anterior, el no encontrar diferencia estadística pudo deberse a que los tres tipos de plántulas se sometieron a un trasplante igual esto es que solo se dejó expuesto al ambiente aproximadamente dos centímetros de la parte apical. Sin embargo, nos da la alternativa de recuperar o renovar material genéticamente valioso al cosechar los minitubérculos.

4.2.2. Experimento 5

Efecto de densidad en la producción de minitubérculos a partir de microtubérculos brotados.

En el cuadro No. 24 se presenta el análisis de varianza en un diseño completamente al azar en el cual se encontró diferencia significativa para el número de minitubérculos cosechados en los tratamientos de 5, 4, 3, 2 y 1 plantas por bolsa, por lo que se efectuó una comparación de medias entre tratamientos usando DMS; estos resultados se presentan en el Cuadro No. 23

En el cuadro 25 se presenta la comparación de medias de tratamientos en la cuales se notan diferencias estadísticas; en el cual el tratamiento cinco y el cuatro con cinco y cuatro plántulas por bolsa respectivamente produjeron el mayor número de minitubérculos por bolsa que los demás, y el tratamiento tres y dos con tres y dos plantulas por bolsa fueron superiores al tratamiento uno con una planta por bolsa y siendo este el que menor número de minitubérculos por bolsa rindió.

Cuadro No. 23 Análisis de varianza para el número de minitubérculos por bolsa en tres tipos de planta de papa de la variedad alfa. FAUANL, Marín N. L., 1998.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	2	7.55	3.77	0.19	0.826
Error	59	1150.13	19.49		
Total	61	1157.69			
c.v.	48%				

Cuadro No. 24 Análisis de varianza para el número de minitubérculos por bolsa en cinco densidades de plantulas de papa de la variedad alfa. FAUANL, Marín N. L., 1998.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	43.76	10.94	9.94	0.000
Error	20	22.00	1.10		
Total	24	65.76			
c.v.	24%				

Cuadro No. 25. Comparación de medias de tratamientos para el número de minitubérculos por bolsa , Efecto de densidades.

Tratamientos	Medias
5 plantas por bolsa	6.2 A
4 plantas por bolsa	5.4 A
3 plantas por bolsa	4.0 B
2 plantas por bolsa	3.8 B
1 plantas por bolsa	2.4 C

Significancia =0.05

4.3. Fase de campo

4.3.1. Experimento 6

Efecto del tamaño de minitubérculo de papa en el rendimiento de tubérculo semilla en la categoría Básica.

En el Cuadro 26 se presentan los cuadrados medios y nivel de significancia del análisis de varianza de un diseño completamente al azar con arreglo factorial, encontrándose diferencias significativas para el origen y calibre del minitubérculo e interacción para rendimiento total de tubérculo semilla y en todas las categorías excepto en las quintas donde solo se presentó diferencias en la interacción calibres por origen.

En el Cuadro 27 se presenta la comparación de medias DMS del rendimiento total y por categorías comerciales de tubérculo y tres orígenes en donde se encontró diferencia el rendimiento total de minitubérculo de segunda generación de bancal fue superior respecto a los otros orígenes. En el rendimiento de tubérculo semilla de las categorías primeras, segundas y terceras, se muestra que no presentaron diferencias los minitubérculos de primera y segunda generación de bancal, superando estos a la primera generación de campo. En la categoría de cuartas, todos los orígenes mostraron diferencias estadísticas entre si, siendo superior el de segunda generación de bancal, seguido por la primera generación de bancal y finalmente la primera generación de campo. Finalmente, la categoría quintas no presentó diferencia estadística con respecto al origen.

Cuadro No. 26 Cuadrados medios y significancia para el rendimiento total de tubérculos semilla Básica y su composición por categorías comerciales en función de tres orígenes y cinco calibres de minitubérculo sembrado. La Ascensión, Aramberri N. L. Octubre 1997.

FV	Rendimiento total en t.ha ⁻¹	Rendimiento por categorías de tubérculo en ton.ha ⁻¹				
		1as.	2 ^{as} .	3as.	4as.	5as.
Origen del Minitubérculo (A)	32.685 *	5.607 *	3.689 *	1.256 *	3.882 *	0.04 NS
Calibre del Minitubérculo sembrado (B)	165.160 *	57.771 *	12.668 *	5.120 *	2.145 *	0.22 NS
AXB	29.374*	6.835 *	7.797 *	5.036 *	1.548 *	0.055 *
Error	1.989	1.294	0.401	0.151	0.072	0.020
Total						
CV.%	6.450	11.94	9.59	10.54	16.21	37.08

*= significativo a un nivel de 0.05; N.S= No significativo.

Cuadro No. 27 Comparación del rendimiento total y para categorías comerciales de tubérculo semilla básica obtenido en base a minitubérculos de tres orígenes. La Ascensión, Aramberri N. L. Octubre 1997.

Origen del Minitubérculo	Rendimiento total en t.ha ⁻¹	Rendimiento por categorías de tubérculo en ton.ha ⁻¹				
		1as.	2 ^{as} .	3as.	4as.	5as.
2 ^a . Generación de bancal (1)	23.886 a 1	10.10 a	7.079 a	3.954 a	2.325 a	0.427
1 ^a . Generación de bancal (2)	21.283 b 3	9.799 a	6.817 a	3.829 a	1.566 b	0.421
1 ^a . Generación de campo (3)	21.411 b 2	8.679 b	5.92 b	3.287 b	1.089 c	0.314
DMS	1.344	1.084	0.603	0.370	0.256	NS

*= significativo a un nivel de 0.05; N.S= No significativo.

En el Cuadro 28 se presentan la comparación del rendimiento total de semilla básica y su composición en tamaños, para los cinco calibres de minitubérculo sembrados. Para el rendimiento total el cual el calibre tres presentó el rendimiento más alto, seguido por los calibre cuatro, uno, dos y el calibre cero fue el que produjo menor rendimiento total de tubérculo semilla de papa. Para el caso del rendimiento de las cinco categorías, el calibre tres y cuatro fueron superiores estadísticamente a los demás calibres, seguidos por los calibres uno y dos, el calibre cero fue el que presentó los rendimientos mas bajos.

En el cuadro 29 se presenta la comparación del rendimiento total de tubérculo semilla básica, para las quince combinaciones resultantes de los tres orígenes y los cinco calibre de minitubérculo sembrados y se observa dentro que el calibre tres de primer generación de bancal obtuvo el mayor rendimiento total de tubérculos semilla básica, seguido por el calibre cuatro de segunda generación de bancal y primera generación de campo los cuales fueron superiores al resto.

Los rendimientos totales de tubérculos semilla básica promedios y para cada categoría más altos, se lograron con los minitubérculos de los calibres tres y cuatro, de primera y segunda generación de bancal. El rendimiento total fue cercano a las 30 ton/ha¹, el cual es inferior al rendimiento promedio de papa comercial en la región, esto se explica por que para la producción de semilla de papa, el cultivo no se deja a que llegue a su máximo rendimiento, para así evitar que las posibles enfermedades que se presenten no se trasloquen al tubérculo y mantener así su sanidad; adicionalmente, durante el desarrollo del cultivo se eliminan las plantas fuera del tipo y aquellas de las cuales se sospeche del más mínimo síntoma de

cualquier enfermedad, por lo que la densidad de población inicial se reduce y con ello el rendimiento. No obstante que debido a las altas temperaturas, en el año de 1997 se caracterizó por ser un año de bajos rendimientos de papa comercial en la región, los rendimientos de tubérculo semilla básica en este experimento pueden considerarse como muy buenos. Bajo este contexto, los tamaños deseados de minitubérculo para maximizar la producción de semilla Básica de papa son los calibres tres y cuatro. El minitubérculo de calibre tres es el que maximiza el rendimiento total con una mayor composición de tubérculo semilla Básica, por lo que en la producción del minitubérculo en microtúneles con tela antiáfidos deberán darse las prácticas de manejo que permitan maximizar el número de minitubérculos de calibre tres y cuatro que se coseche.

Posteriormente a la cosecha, se procedió al análisis de semilla Básica que se cosechó en un laboratorio autorizado por la Dirección General de Sanidad Vegetal, con el fin de determinar su sanidad para los fitopatógenos de riesgo en la papa, los análisis fueron negativos, por lo que la semilla cosechada se clasificó en la categoría Básica, estando libres de los virus y bacteria señalados por la NOM-041-Fito-95 de la SAGARPA.

Cuadro No. 28 Comparación del rendimiento total tubérculo semilla básica y su composición por categorías en base al calibre de minitubérculos sembrado. La Ascensión, Aramberri N. L. Octubre 1997.

Calibres de Minitubérculo sembrados	Rendimiento total en t.ha ⁻¹	Rendimiento por categorías de tubérculo en ton ha ⁻¹				
		1as.	2 ^{as} .	3as.	4 ^{as} .	5as.
3	27.462 a	12.597 a	8.968 a	4.618 a	2.625 a	0.645 a
4	25.511 b	12.187 a	6.798 b	4.555 a	1.715 b	0.506 ab
1	22.272 c	9.048 b	6.298 bc	3.715 b	1.612 bc	0.364 ab
2	20.060 d	8.895 b	5.798 cd	3.055 c	1.284 cd	0.348 ab
0	13.986 e	4.902 c	5.163 e	2.506 d	1.066 d	0.271 b
DMS	1.735	1.399	0.779	0.478	0.331	0.306

Tamaño de las categorías evaluadas:

4=4.6 cm o mayor, 3= 4.5 a3.5 cm, 2=3.4 a 2.6, 1= 2.5 a 1.8 y 0=1.7 a 1.5

Cuadro No. 29 Comparación del rendimiento total de tubérculo semilla básica, para las 15 combinaciones de calibres y origen de minitubérculo sembrado. La Ascensión, Aramberri N. L. Octubre 1997.

Categorías	Origen del minitubérculo	Rendimiento total ton ha ⁻¹
3	1 ^a . Generación en bancal	32.520 a
4	2 ^a . Generación en bancal	29.673 a
4	1 ^a . Generación en campo	26.600 b
1	2 ^a . Generación en bancal	25.323 bc
3	1 ^a . Generación en campo	24.975 bc
3	2 ^a . Generación en bancal	24.890 bc
1	1 ^a . Generación en campo	23.166 c
2	2 ^a . Generación en bancal	22.330 c
2	1 ^a . Generación en bancal	20.479 d
4	1 ^a . Generación en bancal	20.261 d
1	1 ^a . Generación en bancal	18.329 e
2	1 ^a . Generación en campo	17.386 e
0	2 ^a . Generación en bancal	17.208 e
0	1 ^a . Generación en bancal	14.823 f
0	1 ^a . Generación en campo	9.926 g
DMS		3.005

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Fase laboratorio.

5.1.1. Experimento 1

Efecto de diferentes tipos de tapas, tipos de explante en tres variedades en el crecimiento de papa *in vitro*.

CONCLUSIONES:

1. La tapa de polietileno de alta densidad fué en general superior a las tapas convencionales en las variables evaluadas.
2. La utilización de la tapa de polietileno de alta densidad puede disminuir los costos de producción de plantas de papa *in vitro*.
3. La planta *in vitro* de la variedad Atlantic presentó el mejor comportamiento en las variables evaluadas con el tipo de tapa polietileno de alta densidad.
4. El explante de la parte apical fue superior a los de la parte media y basal para producir planta vigorosa de papa *in vitro*.

RECOMENDACIONES:

1. Para aumentar la tasa de multiplicación de las plantas de papa *in vitro* se recomienda la tapa de polietileno de alta densidad y utilizar como explante la parte apical dando un periodo de 15-20 días de crecimiento en cada subcultivo.
2. En la metodología actual donde se utilizaron tubos de vidrio con 25 ml de medio, se recomienda disminuir la cantidad de medio de cultivo a 10 ml por tubo, debido al corto periodo de desarrollo de la planta *in vitro*, lo cual contribuirá a reducir costos y el tiempo ente subcultivos.

5.1.2. Experimento 2 .

Efecto del tratamiento químico (fungicida -bactericida) en brotes de rodajas de papa sobre la contaminación y desarrollo de la planta *in vitro*.

CONCLUSIÓN.

- 1. Se descarta la influencia de los agroquímicos utilizados en la eliminación de patógenos exógenos en rodajas de papa en la variedad Alfa que pudieran influir en la reducción del nivel de contaminación al establecimiento del explante y en la calidad de la planta *in vitro*.**

RECOMENDACIÓN

- 1. Los resultados muestran que puede seguir trabajándose, con el procedimiento convencional de extracción de explantes de brotes de tubérculos visualmente sanos y lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio.**

5.1.3. Experimento 3

Determinación de la sanidad de las plantas *in vitro* y minitubérculos de papa mediante la técnica serológica ELISA.

CONCLUSIÓN.

Los resultados de laboratorio confirman que bajo las condiciones de microtúnel con tela antiáfidos se conservó la ausencia de virus tanto en planta *in vitro* como en el minitubérculo cosechado a partir de la primeras plantas y así el tubérculo semilla que se genere.

5.2. Fase de invernadero.

5.2.1. Experimento 4.

Producción de minitubérculo a partir de plantas *in vitro* envejecidas.

CONCLUSIÓN.

1. Bajo condiciones controladas el tipo de planta *in vitro* envejecida, puede ser utilizada para la producción de minitubérculos.

RECOMENDACIÓN.

1. No obstante de que una planta *in vitro* envejecida por no subcultivarse, si aún está viva, es posible utilizarla con éxito para la producción de minitubérculo.

5.2.2. Experimento 5.

Evaluación de diferentes densidades de plántulas provenientes de minitubérculos sembrados en bolsas para la producción de minitubérculo de papa de la variedad Atlantic.

CONCLUSIÓN.

1.- Es posible obtener un rendimiento aceptable de 5.3 a 6.5 minitubérculos por bolsas transplantando a cada bolsa de 4 a 5 plántulas provenientes de microtubérculo de papa de la variedad Atlántic.

RECOMENDACIÓN.

1.- Estos resultados indican que la producción de minitubérculo bajo el sistema utilizado puede ser llevado a cabo partiendo de microtubérculo por productores de papa que no poseen invernaderos sofisticados y lograr así su autoabasto de tubérculo semilla de papa de alta calidad fitosanitaria y genética; y de esta manera lograr una mayor seguridad en sus sistemas de producción en este cultivo.

5.3. Fase de campo.

5.3.1. Experimento 6

5.3.1. Efecto del tamaño de minitubérculo de papa en el rendimiento de tubérculo semilla en la categoría Básica

CONCLUSIONES.

- 1. Los máximos rendimientos de papa en la primer generación de campo o categoría Básica se logran con minitubérculos de los calibres 3 y 4.**
- 2. La calidad fitosanitaria y genética de la semilla de papa en la categoría Básica depende de la sanidad inicial del minitubérculo utilizado, de las prácticas de control fitosanitario en el campo, de la eliminación de las plantas con mínimos síntomas de cualquier enfermedad al inicio de su crecimiento y de aquellos que no se ajusten al tipo de planta de la variedad sembrada.**

RECOMENDACIONES.

- 1. De acuerdo a los resultados se recomiendan los calibres 3 y 4 para la producción de tubérculo semilla de papa en su categoría de Básica en la variedad Atlantic.**
- 2. La producción de semilla de papa en la categoría Básica de alta calidad fitosanitaria y genética, es posible lograrla con el uso de microtúneles de tela antiáfidos en vez de las instalaciones costosas que representan las de invernaderos sofisticados.**

VI. LITERATURA CITADA

Alonso , F. 1996. El Cultivo de la patata. Ediciones Mundiprensa. Madrid, España.

Atlantic Canadá Potato Guide. 1993. Advisory Committee on Potatoes. Atlantic Provinces Agriculture Services Co-ordinating Committee. 59 p

Bryan, J. E. 1995. Parcela de semilla de papa. Técnica al alcance del agricultor. Boletín de información técnica. CIP reimpresión 13p

Cruz, 1998. Detección e identificación de Fitopatógenos de Importancia Cuarentenaria. SAGAR.

Cruz, F. M. y Fariás, T. G. 1997. Guía ilustrada de la prueba de inmunoabsorción con Enzimas Ligadas para la detección de Fitopatógenos (ELISA). SAGAR Comité Nacional de Sanidad Agropecuario. México D.F. 23p.

CIP, 1997. Tissue Culture micropropagation, conservation and export of potato germoplasm. International Potato Center, Lima, Perú..

Espinoza, N. Lizarraga, R., Sigueñas, C., Buitron, F. .Bryan, J., Dodds, J. 1992. Tissue Culture micropropagation, conservation and export of potato germoplasm. International Potato Center, Lima, Perú..

Gálvez y Lorence, 1997. Cuaderno de Vigilancia Biotecnológica. De Centro para la innovación Tecnológica, México D.F.

Hettemma, S/F. Seed Potatoes-Pommes de terre de Semense. Isla del Príncipe Eduardo. Canadá.

Hawkins, 1996. Seed potato Specialist, NB Agriculture, Fredericton, NB.

Hernández, R.1996. Curso de saneamiento de enfermedades vírales de papa.

Jayasinghe,V. y Salasar, L. F. 1993. Manual de técnicas en virología de plantas fascículos CIP Lima Perú.

Lozoya, 1995. Curso de saneamiento de papa. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín N. L.

Leatal, J. R. Nucler seed potato produccion. 28p

Matthews, 1970. Plant Virology. By Academic Press, New York San Francisco London.

Murashige, T. Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tabacco tissus culture. Physiologia Plantarum. 473-497p

NOM-041-FITO-1995 SAGAR. Proyecto de Norma Oficial Mexicana. Secretaría de Agricultura. Ganadería y Desarrollo Rural. Diario Oficial. México, D.F.

Olivares, 1993. Paquete Computacional de Diseños Experimentales. FAUANL. Fac. de Agronomía de la UANL., Marín, N. L. México.

Peralta, E. L. y Farias. M. T. 1987. Manual sobre la Técnica de inmunoenzimática ELISA. ENPES, La Habana, Cuba. 71p.

Rowe, 1993. Potato Health Management. University of Wisconsin, Madison.

SAGAR, 1996. (Secretaría de Agricultura y Ganadería) Guía Ilustrada de la Prueba de Inmunoadsorción con Enzimas Ligadas para la detección de fitopatógenos de importancia cuarentenaria. Departamento de Fitopatología. México, D. F.

Saad, 1997. Cuaderno de Vigilancia Biotecnológica. De. Centro para la innovación Tecnológica, México D.F.

Valdés, 1994. Curso Taller: Evento De Aprobación De Profesionales en Producción de Semillas De Papa Y Certificación Sanitaria. Fac. de Agronomía. UANL. Marín N.L. México.

Valdés, 1995. La Biofábrica una Alternativa Para México. V Ciclo de Conferencias para el Fitotecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Fitomejoramiento. Buena Vista, Saltillo, Coahuila, México.

Valdés, 1998. Producción de semilla Agámica de Papa y otras Especies Vegetales Informes Técnicos Semestrales: Enero-Junio 1997, Julio - Diciembre 1997 y Enero - Junio 1998. Sistema de Investigación Alfonso Reyes SIREYES 95/034. FAUANL, HBR, IDP-UCLV.

Valdés, y Moreno. 1999. Integración Tecnológica para Producir Semilla de Papa de Alta Calidad en el Noreste de México. IX Congreso Nacional de Productores de Papa. León, Gto. México.

Van der Zaag, 1987. Yield reduction in relation to virus infection. In: Viruses of Potatoes and Seed - Potatoes Production Chap. Podoc, Wagenien, Netherlands.

Apendice

Pasos en el protocolo de la técnica serológica ELISA

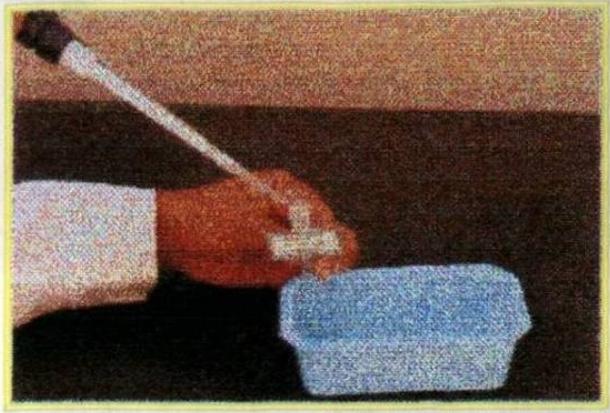


Figura 2A. Preparación de una solución amortiguadora (SOLAM) adsorción o cobertura.

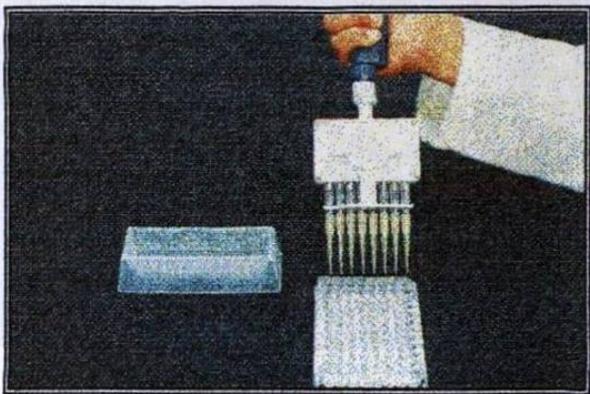


Figura 2B. Agregar 100ul de la gamaglobulina purificada (anticuerpo) con la ayuda de una micropipeta.



Figura 3A. Lavado de la placa de microtitulación con la ayuda de una pizeta

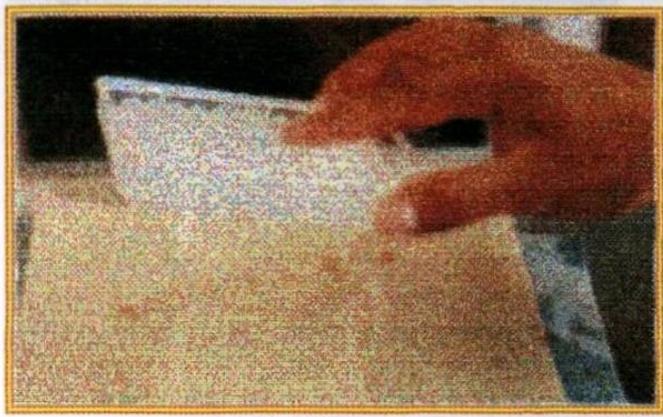


Figura 3B. Secado de la placa de microtitulación golpeando con firmeza sobre el papel secante hasta eliminar la solución de fosfatos + Tween (SF+T).

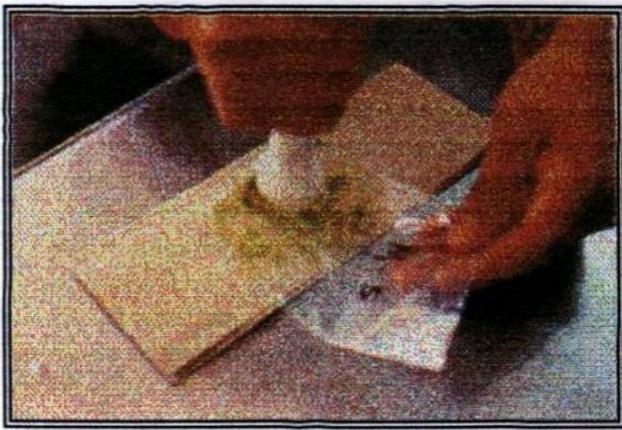


Figura 4A. Macerado del tejido colocandolo en bolsas de plástico en una (SOLAM) de extracción.

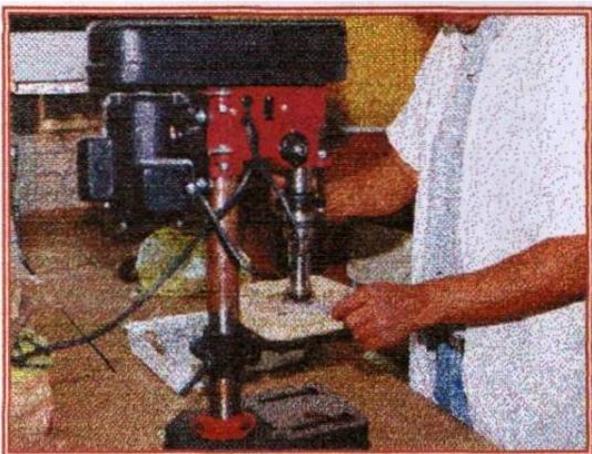


Figura 4B. macerado mecanico del tejido en macerador tipo taladro.



Figura 4C. Se toman 100ul de tejido macerado con una micropipeta.

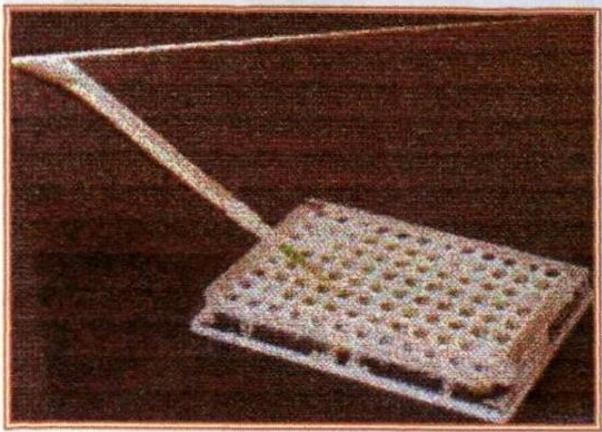


Figura 4D. Se agregan 100ul del tejido macerado a un pocillo de la placa con su repetición, y con una micropipeta.



Figura 4E. Incubación de la placa de microtitulación en camara humeda.

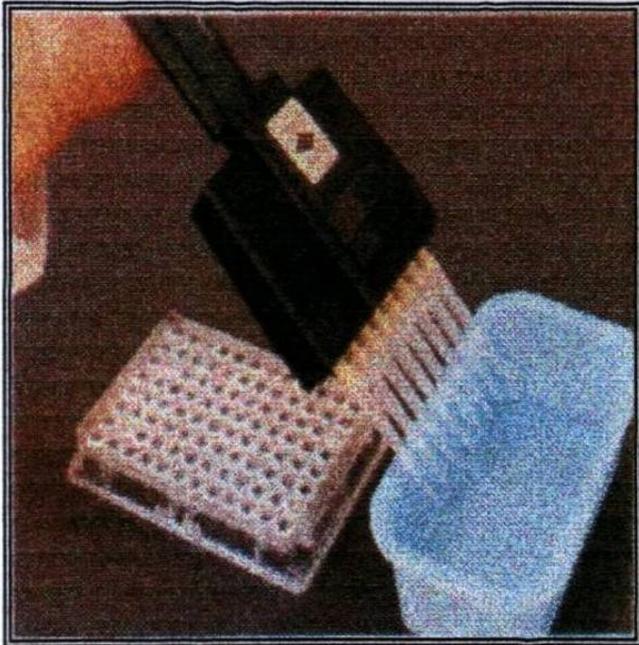


Figura 6B. adicionar 100ul de la solución sustrato a cada pocillo de la placa con una micropipeta multicanal

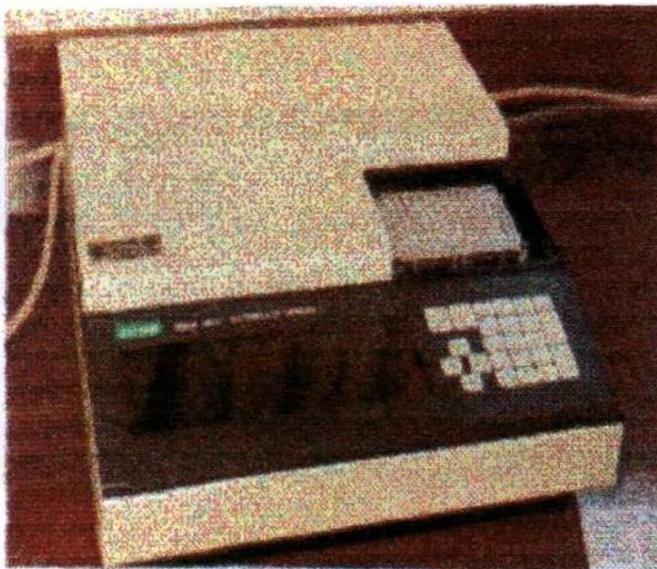


Figura 6C. Medición de la reacción mediante un lector de placas ELISA a una longitud de onda de 405 y 620nm

VII. APÉNDICE

7.1. Pasos en el protocolo de la técnica serológica ELISA

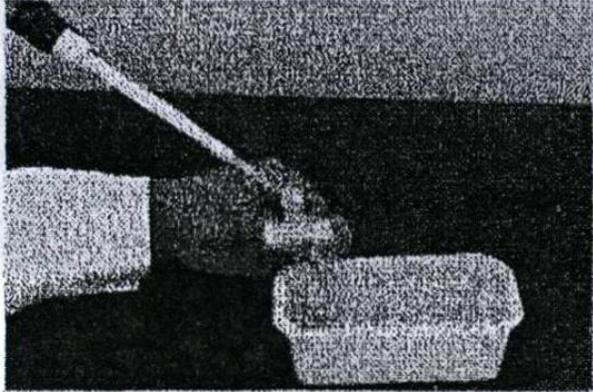


Figura 2A. Preparación de una solución amortiguadora (SOLAM) adsorción o cobertura.

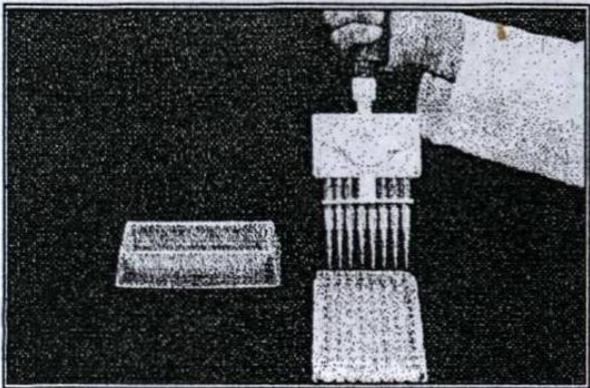


Figura 2B. Agregar 100ul de la gamaglobulina purificada (anticuerpo) con la ayuda de una micropipeta.

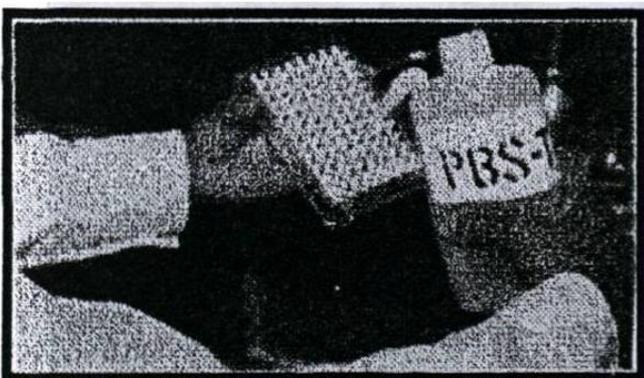


Figura 3A. Lavado de la placa de microtitulación con la ayuda de una pizeta

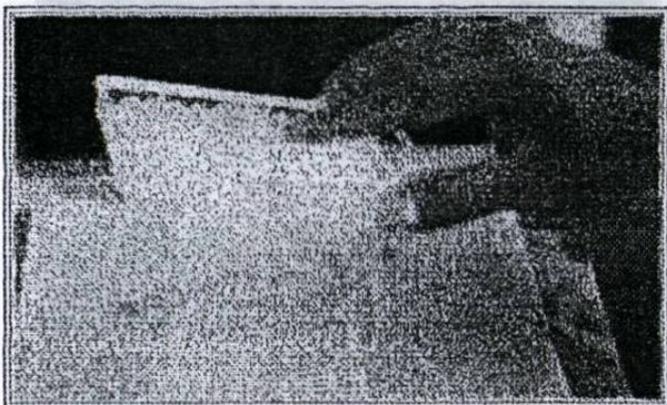


Figura 3B. Secado de la placa de microtitulación golpeando con firmeza sobre el papel secante hasta eliminar la solución de fosfatos + Tween (SF+T).

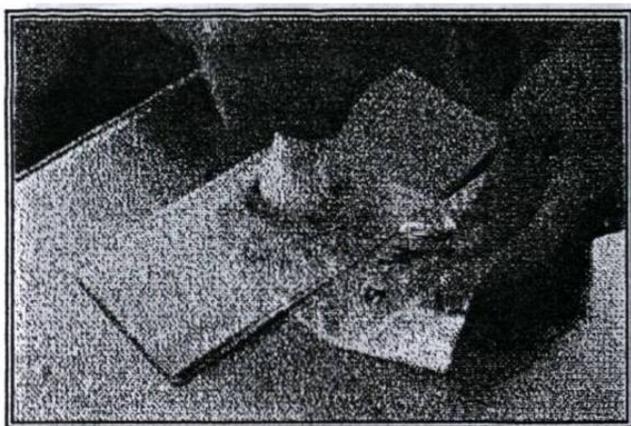


Figura 4A. Macerado del tejido colocandolo en bolsas de plástico en una (SOLAM) de extracción.

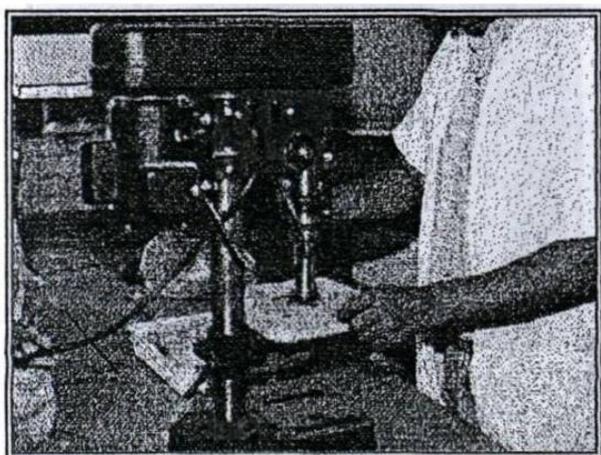


Figura 4B. macerado mecanico del tejido en macerador tipo taladro.

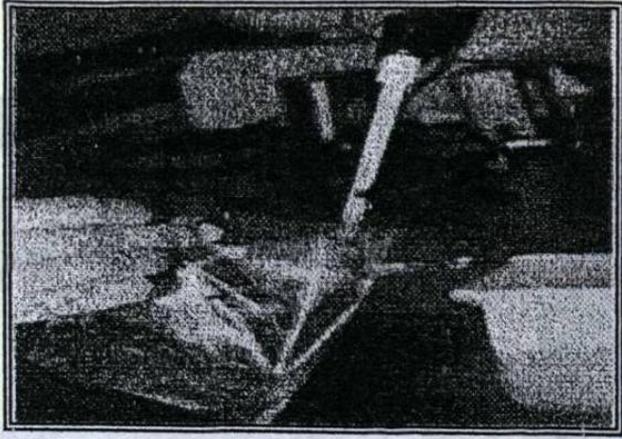


Figura 4C. Se toman 100ul de tejido macerado con una micropipeta.

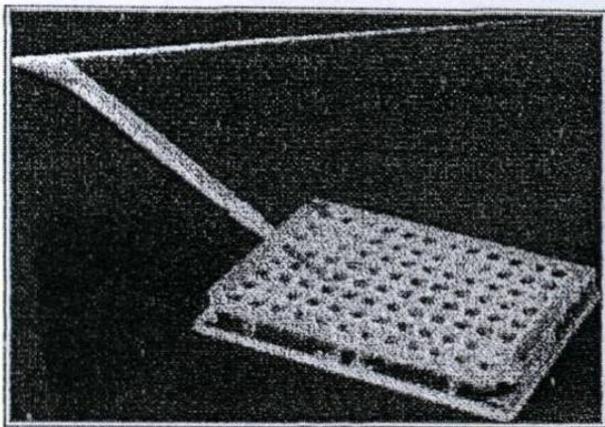


Figura 4D. Se agregan 100ul del tejido macerado a un pocillo de la placa con su repetición, y con una micropipeta.

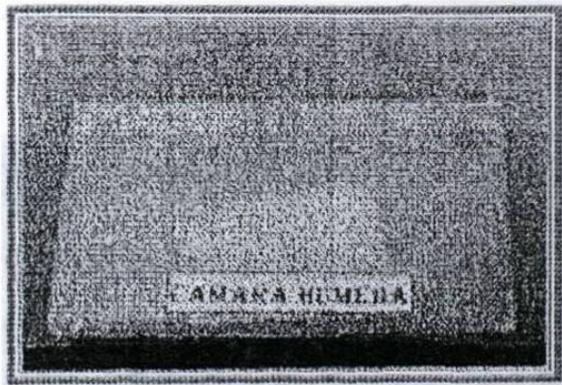


Figura 4E. Incubación de la placa de microtitulación en cámara húmeda.

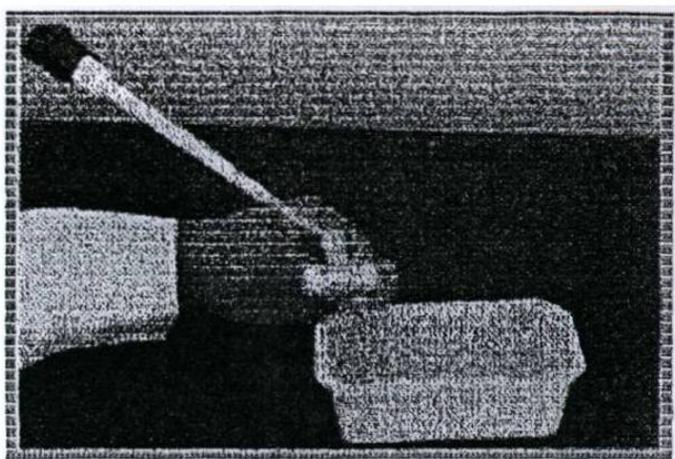


Figura 5A. Dilución del conjugado enzimático en una SOLAM de reactivo.

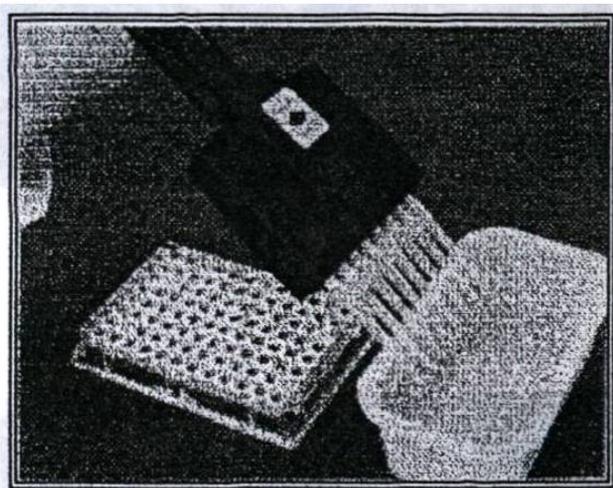


Figura 5B. agregar 100ul del conjugado enzimático a cada pocillo de la placa con una micropipeta multicanal.

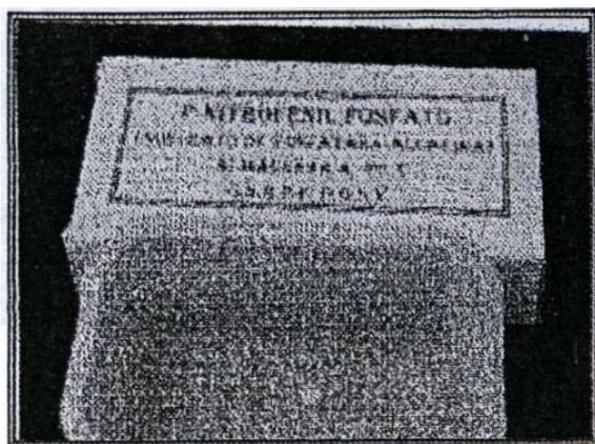


Figura 6A. agregar una pastilla de para-nitrofenil fosfato (PNP) por cada 5ml de SOLAM de sustrato.

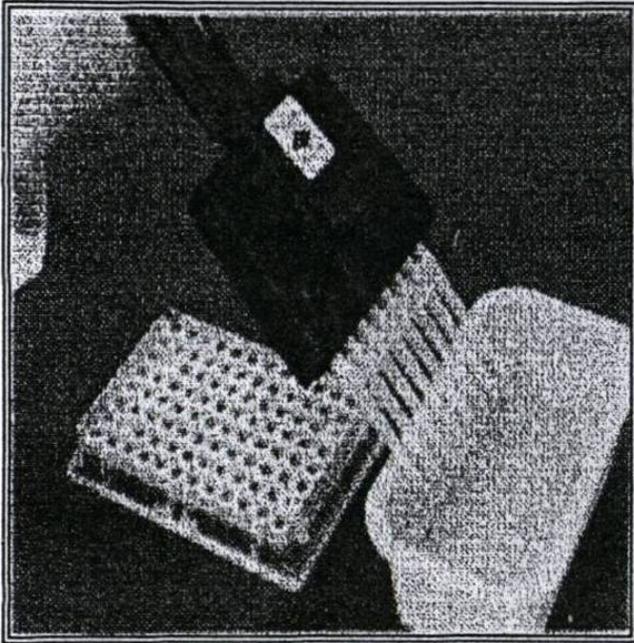


Figura 6B. adicionar 100ul de la solución sustrato a cada pocillo de la placa con una micropipeta multicanal

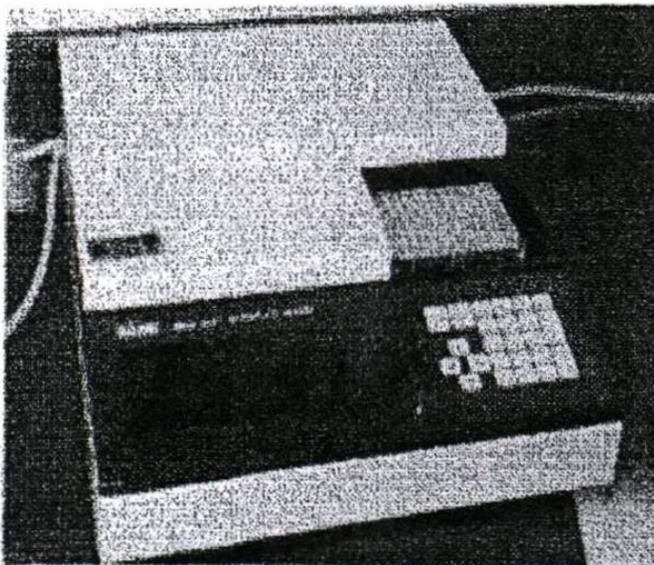


Figura 6C. Medición de la reacción mediante un lector de placas ELISA a una longitud de onda de 405 y 620nm



