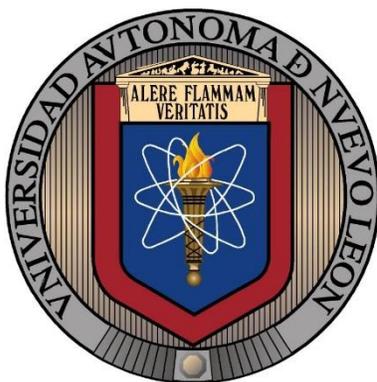


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



EFFECTO DE TRES ELICITORES SOBRE CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN CONDICIONES *in vitro* Y EN CAMPO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

MARIO JAMES FOREST

GENERAL ESCOBEDO, N. L.

MARZO DE 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



EFFECTO DE TRES ELICITORES SOBRE CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN CONDICIONES *in vitro* Y EN CAMPO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

MARIO JAMES FOREST

GENERAL ESCOBEDO, N. L.

MARZO DE 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



EFFECTO DE TRES ELICITORES SOBRE CULTIVO DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN CONDICIONES *in vitro* Y EN CAMPO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

MARIO JAMES FOREST

GENERAL ESCOBEDO, N. L.

MARZO DE 2022

**ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR

**Dra. Ma. del Carmen Ojeda Zacarías
Director de Tesis**

**Ph.D. Héctor Lozoya Saldaña
Codirector**

**Ph.D. Rigoberto E. Vázquez Alvarado
Asesor Auxiliar**

**Ph.D. Emilio Olivares Sáenz
Asesor Auxiliar**

**Dr. Alejandro Ibarra López
Asesor Auxiliar**

**Ph.D. Juan Antonio Vidales Contreras
Subdirector de Posgrado e Investigación**

DEDICATORIA

Primero a Dios por sus bondades y sus bendiciones, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A mis familias: En memoria de mi padre que murió hacen 16 años y mi madre Clarise Charles por ayudarme tanto en lo personal e insistirme, mis hermanos y hermanas por sus consejos.

A mi esposa: Mardochee Lizaire, por estar a mi lado en los momentos difíciles dándome su apoyo infinito, por su apoyo incondicional en la culminación de mis estudios, Por sus aportaciones hasta ver realizada esta meta que hoy es una realidad, gracias amor.

A mis amigos en especial: Ph. D Abe Valentín que es como un padre para mí y por su ayuda durante mis estudios y Dr. Marshall Robert Chamberlin por su gran corazón y por su ayuda durante este largo trayecto.

A mis amigos, de una manera u otra, siempre estaban al lado mío y se dieron cuenta del duro momento que atravesé y me ayudaron a salir adelante: Ing. Agr. Juan Adalberto Padilla Garza, Ing. Agr. Arile Aliste, Ing. Nestor Everardo Aranda Ledesma, Ing. Agr. Reynaldo Alfredo Domínguez y Ing. Agr. Kenel Merzilus.

A mi amigo muy especial: Alhagie Cham, que es como mi hermano para mí, siempre estuvo a mi lado, gracias Cham por tus consejos y ayuda durante mis estudios.

AGRADECIMIENTOS

Al Gobierno Mexicano y al CONACYT por el financiamiento de la beca de manutención. Gracias México por ser parte de mi vida profesional y social.

A mi tutora **Dra. Ma. del Carmen Ojeda Zacarías**, por su orientación científica en la realización de esta investigación. Por la confianza, los consejos, la paciencia, y por el tiempo invertido en este trabajo.

A mi codirector **Ph.D. Héctor Lozoya Saldaña** y a mis asesores: **Ph.D. Rigoberto E. Vázquez Alvarado**, **Ph.D. Emilio Olivares Sáenz** y **Dr. Alejandro Ibarra López** por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico en la corrección final de la tesis.

A todos mis profesores de la maestría por ser gente de luz y por sus sacrificios de transmitirme sus enseñanzas para consolidar mi aprendizaje, les agradezco de todo corazón por sus valiosos aportes. Y de manera especial al Ph. D. Emilio Olivares Sáenz y al Dr. Alejandro Ibarra López por sus sugerencias y su comprensión.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), especialmente a la

FAUANL por poner recursos a la disposición de mi enseñanza. FAUANL, estoy muy agradecido de ser parte de mi historia.

Al Laboratorio de Biotecnología vegetal Unidad Marín y al Lab. de Cultivo de Tejidos Vegetales, de la FAUANL, por las disponibilidades brindadas para culminar con esta investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ABREVIATURAS	xviii
RESUMEN.....	xx
ABSTRACT	xxii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	4
1.1.1 Hipótesis General.....	4
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Objetivo General.....	4
1.2.2 Objetivos Específicos	5
2. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 Origen del Cultivo de Papa.....	6
2.1.1 Importancia del cultivo de papa	6
2.1.2 Producción a nivel mundial.....	7
2.1.3 Producción a nivel nacional y local.....	8
2.1.4 Consumo de papa en el mundo.....	9
2.1.5 Usos de la papa	9
2.1.6 Clasificación taxonómica y características morfológicas de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> . L).....	10
2.1.7 Descripción.....	11
2.1.7.1 Brote.....	12
2.1.7.2 Tallo	13
2.1.7.3 Raíz	13
2.1.7.4 Hojas.....	14
2.1.7.5 Flor	14

2.1.7.6 Fruto y semilla	15
2.1.7.7 Estolón.....	15
2.1.7.8 Tubérculo	16
2.1.7.9 Fenología de la papa	17
2.1.8 Requerimientos climatológicos de papa	18
2.1.8.1 Temperatura	18
2.1.8.2 Suelo.....	19
2.1.8.3 Agua	19
2.1.8.4 Humedad	19
2.1.8.5 Riego	19
2.1.9 Nutrientes minerales (N, P, K).....	20
2.1.10 Principales plagas y enfermedades del cultivo de papa	20
2.1.10.1 Plagas	21
2.1.10.2 Enfermedades.....	22
2.1.11 Elicitores.....	24
2.1.11.1 Receptores celulares.....	26
2.1.11.2 Los Inductores como moléculas de reconocimiento	27
2.1.12 Cultivo de tejidos vegetales como alternativa biotecnológica	28
2.1.12.1 Organogénesis	30
2.1.12.2 Organogénesis directa	31
2.1.12.3 Organogénesis indirecta	32
2.1.12.4 Factores que afectan la organogénesis	33
2.1.12.5 Organogénesis directa e indirecta en papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).....	34
3 MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1 Etapa uno. Experimento en Campo	35
3.1.1 Localización del estudio.....	35
3.1.2 Origen del material vegetal.....	36
3.1.3 Siembra del cultivo y diseño experimental	36
3.1.4 Análisis estadístico.....	38
3.1.5 Descripción del diseño experimental y tratamientos	40
3.1.6 Evaluación de variables.....	40
3.1.7 Obtención del extracto enzimático	41
3.1.8 Evaluación de la actividad enzimática de polifenol-oxidasa	42

3.1.9	Determinación de inhibición de radicales DPPH	43
3.2	Etapa dos. Experimento de Laboratorio	45
3.2.1	Localización del experimento	45
3.2.2	Proceso de acondicionamiento del material de campo	45
3.2.3	Proceso de pre-desinfestacion del material vegetal.....	46
3.2.3.1	Establecimiento <i>in vitro</i>	47
3.2.3.2	Medio de cultivo del establecimiento de los explantes	47
3.2.3.3	Etapa de establecimiento aséptico de los explantes	48
3.2.3.4	Etapa de multiplicación de brotes de papa.....	49
3.2.3.5	Efecto de la aplicación de los elicitores sobre la organogénesis directa en cultivo de papa.....	51
3.2.3.6	Efecto de los elicitores sobre la organogénesis indirecta en cultivo de papa.	53
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1	Experimento uno.....	55
4.1.1	Número de tallos por planta	55
4.1.2	Longitud de tallos por planta	56
4.1.3	Número de hojas por planta	58
4.1.4	Rendimiento del cultivo	59
4.1.4.1	Tubérculos cosechados por planta	59
4.1.4.2	Producción de tubérculos (g-planta).....	60
4.1.4.3	Peso promedio por tubérculo (g).....	61
4.1.4.4	Actividad enzimática de polifenol-oxidasa	62
4.1.4.5	Actividad antioxidante de DPPH	63
4.2	Porcentaje de Asepsia.....	64
4.2.1	Número de explantes con brotes	65
4.2.2	Longitud de brotes (Cm)	66
4.2.3	Número de raíces en brotes regenerados <i>in vitro</i>	67
4.2.4	Longitud de raíces en brotes regenerados <i>in vitro</i> . (Cm).....	68
4.2.5	Multiplicación de los explantes <i>in vitro</i>	69
4.2.6	Efecto de la aplicación de los elicitores sobre la organogénesis directa <i>in vitro</i> de la papa.....	71
4.2.7	Efecto de los elicitores sobre la organogénesis indirecta en el cultivo de papa.	73

5 CONCLUSIONES	76
6 BIBLIOGRAFÍA	77
7 Anexos	92

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Descripción	Páginas
1	Clasificación taxonómica de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).	11
2	Tratamientos evaluados de los elicitores en campo del cultivo de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.).	17
3	Sustratos utilizados para determinar actividad enzimática de polifenol-oxidasa en Hoja de Papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	37
4	Sustratos utilizados para determinar la capacidad antioxidante de la DPPH en hoja de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	42
5	Tratamientos evaluados de los elicitores <i>in vitro</i> en la organogénesis directa e indirecta en papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	44
6	Tratamientos evaluados de las hormonas en la etapa de multiplicación de brotes de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	50
7	Tratamientos evaluados en la organogénesis directa <i>in vitro</i> en papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	52
8	Tratamientos evaluados en la organogénesis indirecta <i>in vitro</i> en papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	54

9	Porcentaje de asepsia en el establecimiento de los explantes <i>in vitro</i> durante las nueve semanas	64
10	Efecto de diferentes concentraciones de BAP y ANA en la multiplicación de brotes <i>in vitro</i> de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna	70
11	Efecto de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis directa <i>in vitro</i> de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	72
12	Comportamiento de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis indirecta de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna.	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Descripción	Paginas
1	Morfología de la planta de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.). A. Planta completa de papa nativa. B. Morfología floral	12
2	Fenología de la papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	17
3	Ubicación del Experimento. Laboratorio de Biotecnología Vegetal en la Unidad Académica Marín.	35
4	Bolsas de polietileno con sustrato constituido por una mezcla con 2/3 partes de suelo de la región y 1/3 parte de composta de origen animal, que se utilizaron en el experimento en campo.	37
5	Mapa del diseño experimental en campo	39
6	Plantas de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.), de la variedad Fianna con diferentes aplicaciones de elicitores a los 21 días. A. T1 Control; B. T2 Activane; C. T3 Micobiol; y D. T4 Stemicol.	40
7	Proceso de extracto enzimático en las hojas de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.) de la variedad Fianna, al final del experimento en Campo.	41
8	Proceso de extracto enzimático en las hojas de papa para determinar la actividad enzimática.	43
9	Ubicación del Experimento A. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Campus de Ciencias	45

- Agropecuarias, Gral. Escobedo, Nuevo León. **B.** Vista frontal del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales.
- 10 Acondicionamiento del Material Vegetal en una solución bactericida-fungicida de los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna. **A:** Material Vegetal en una solución bactericida-fungicida, **B:** Tubérculos de papa, **C:** Secado el material vegetal a temperatura ambiente. 46
- 11 Proceso de desinfestación del material vegetal. **A:** brotes crecidos, **B:** Brotes listos, **C:** Los brotes en una solución de antifúngico. 47
- 12 Proceso de preparación del medio de cultivo. **A:** Pesado las sales básicas del medio MS, **B:** Ajuste de pH en el medio de cultivo, **C:** Esterilización los medios de cultivo en la autoclave. 48
- 13 Proceso de establecimiento aséptico *in vitro* de explantes de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna. **A:** Explantes en proceso de desinfección en la campana de flujo laminar, **B:** Siembra *in vitro* de los explantes en los diferentes tratamientos, **C:** Unidades experimentales en el cuarto de incubación en condiciones controladas. 49
- 14 Etapa de multiplicación *in vitro* de explantes de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna. **A:** Brotes regenerados de papa de la etapa de establecimiento. **B:** Brotes incubados en la etapa de multiplicación. 50

15	Efecto de los elicitores sobre el crecimiento en la organogénesis directa. A: brotes regenerados. B: brotes en las sales básicas del medio MS.	52
16	Efecto de los elicitores sobre el callogenesis. A: brotes regenerados, B: brotes en las sales básicas del medio MS.	54
17	Comparación del número de tallos durante las cuatro aplicaciones de elicitores en el desarrollo del cultivo.	55
18	Comparación de medias de longitud de tallos durante las cuatro aplicaciones de elicitores de estudio.	57
19	Comparación de medias del número de hojas durante las cuatro aplicaciones de estudio.	58
20	Comparación de medias del rendimiento durante las cuatro aplicaciones de estudio.	59
21	Prueba de comparación de medias de la producción durante el ciclo del cultivo de estudio.	60
22	Peso de tubérculo obtenido durante el ciclo del cultivo y la prueba entre tratamientos.	61
23	Comparación de medias de la actividad enzimática de polifenol-oxidasa en hojas de papa (<i>S. tuberosum</i> L.) de variedad Fianna después de 90 días.	62
24	Comparación de medias de la actividad enzimática de DPPH en hojas de papa (<i>S. tuberosum</i> L.) de variedad Fianna después de 90 días.	63

25	Relación entre las semanas y el número de brotes en papa bajo condiciones de cultivo de tejidos.	65
26	Relación entre las semanas y la longitud de brotes en papa bajo condiciones de cultivo de tejidos.	66
27	Número de raíces en los explantes durante el desarrollo del cultivo después de nueve semanas.	67
28	Longitud de raíces en brotes regenerados durante su desarrollo <i>in vitro</i> de nueve semanas.	68
29	Efecto de BAP/ANA en la multiplicación <i>in vitro</i> de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.). A. T1. Control, B. T2. (0.2 mg L ⁻¹ de ANA y 0.5 mg L ⁻¹ de BAP), C. T3. (0.2 mg L ⁻¹ de ANA y 1.0 mg L ⁻¹ de BAP).	70
30	Efecto de los elicitores en la organogénesis directa de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.). A. T2: Activane, B. T3: Micobiol, C. T4: Stemicol.	72
31	Efecto de los elicitores en la organogénesis indirecta de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.). A. T2: Activane, B. T3: Micobiol, C. T4: Stemicol.	74

ABREVIATURAS

h	Hora
μm	Micra
mm	Milímetro
cm	Centímetro
m	Metro
ha	Hectárea
μM	Micromolar
mL L^{-1}	Mililitro por litro
mg L^{-1}	Miligramo por litro
g L^{-1}	Gramo por litro
v/v	Volumen sobre volumen
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
%	Porcentaje
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
FV	Fuentes de variación
GL	Grados de libertad
CM	Cuadrado medio
F	F calculada
Sig	Significancia
mL	Mililitro

L	Litro
mg	Miligramo
g	Gramo
kg	Kilogramo
t	Tonelada
s	Segundo
min	Minuto
MS	Murashige and Skoog, 1962
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
ANA	Ácido 1-naftalenacético
BAP	6-bencilaminopurina
KIN	Kinetina
NaClO	Hipoclorito de sodio
Tween-20	Polisorbato 20
HCl	Ácido clorhídrico
KOH	Hidróxido de potasio

RESUMEN

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es una importante hortaliza originaria del norte de Tílica, en los Andes del sur de Perú, actualmente este cultivo está distribuido por todo el mundo y China es el principal productor. México ocupa el cuarto lugar de mayor producción en el mundo.

El incremento de la población mundial e incidencia de las plagas y enfermedades en el cultivo de papa, ha inducido a utilizar técnicas biotecnológicas enfocadas en la producción de plantas sanas *in vitro*. La aplicación de elicitores como estrategia biotecnológica a través de la tecnología del cultivo de tejidos vegetales, es una estrategia prometedora para mejorar este cultivo *in vitro*. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de tres elicitores (Activane[®], Micobiol[®] y Stemicol[®]) en condiciones de campo sobre el crecimiento y producción. La segunda parte de esta investigación fue evaluar los mismos elicitores en la organogénesis directa e indirecta *in vitro* en papa. En la etapa de campo se evaluó el comportamiento de algunas variables de crecimiento como número de tallos por planta, longitud de tallos y número de hojas por planta. Al final del ciclo del cultivo se evaluaron los pesos, número de tubérculos. También se evaluaron algunas enzimas como polifenol-oxidasa y capacidad antioxidante al final del cultivo. Como resultados se tiene que el mejor elicitor con respuesta favorable sobre el número de tallos por planta, longitud de tallos y número de hojas por planta fue el T2 (Activane[®]) y por parte del rendimiento, el T4 (Stemicol[®]) mostró mayores tubérculos cosechados. Mientras que en la producción los

mayores valores estuvieron entre el T4 (Stemicol®) y T2 (Activane®) y para el peso promedio por tubérculo fue T2 (Activane®), mostrando efecto positivo. Por último, en el DPPH no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Se concluyó que la aplicación de elicitores tuvo un efecto positivo sobre el número y longitud de tallos por planta, número de hojas por planta, producción y actividades enzimáticas.

Para el establecimiento aséptico 15% (v/v), durante 15 min fue la mejor forma de desinfestación para obtener explantes asépticos. Como resultado, se obtuvo un 90% de explantes asépticos en las sales basales de Murashige y Skoog (MS), después de nueve semanas evaluando las variables: porcentaje de asepsia, número y longitud de brotes por explante, así como número y longitud de raíces.

Se logró una metodología adecuada para la multiplicación de los brotes con 0.2 mg L⁻¹ de ANA y 0.5 mg L⁻¹ de BAP. Además, la aplicación de los elicitores favoreció la organogénesis, siendo el elicitor Stemicol® con 0.8 g L⁻¹ el más efectivo para inducir, las siguientes variables: peso y diámetro del callo, número y longitud de brotes y número y longitud de raíces en los explantes.

ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is an important vegetable native to the north of Titica, in the Andes of southern Peru, currently this crop is distributed throughout the world and China is the main producer. Mexico occupies the fourth place with the highest production in the world.

The increase in the world population and the incidence of pests and diseases in potato cultivation has led to the use of biotechnological techniques focused on the production of healthy plants in vitro. The application of elicitors as a biotechnological strategy through plant tissue culture technology is a promising strategy to improve this culture in vitro. The objective of the present investigation was to evaluate the effect of three elicitors (Activane®, Micobiol® and Stemicol®) under field conditions on growth and production. The second part of this research was to evaluate the same elicitors in direct and indirect organogenesis in vitro in potatoes. In the field stage, the behavior of some growth variables such as number of stems per plant, length of stems and number of leaves per plant was evaluated. At the end of the crop cycle the weights were taken and the tubers and production per treatment were counted. Some enzymes such as polyphenol oxidase and antioxidant capacity were also evaluated at the end of the culture. As a result, the elicitor with the best response on the number of stems per plant, length of stems and number of leaves per plant was T2 (Activane®) and for the part of the yield, T4 (Stemicol®) showed higher harvested tubers. In the production part, the highest values were between T4 (Stemicol®) and T2 (Activane®) and for the average

weight per tuber, T2 (Activane®) showed a positive effect. Finally, in the DPPH there were no significant differences between the treatments. It was concluded that the application of elicitors had a positive effect on the number of stems per plant, length of stems, number of leaves per plant, production and enzymatic activities.

For the aseptic establishment 15% (v / v), during 15 minutes it is the best form of disinfection to obtain aseptic explants. As a result, 90% aseptic explants were obtained in the basal salts of Murashige and Skoog (MS), after nine weeks evaluating the variables: asepsis percentage, number and length of shoots per explant and number and length of roots.

An adequate methodology for the multiplication of the shoots was achieved with 0.2 mg L⁻¹ of ANA and 0.5 mg L⁻¹ of BAP. In addition, the application of elicitors favored organogenesis, with the Stemicol® elicitor with 0.8 g L⁻¹ being the most effective for induction, callus weight and diameter, number and length of shoots, and number and length of roots in the explants.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es el cuarto cultivo de mayor importancia económica en el mundo siendo cultivada en más de 100 países en el mundo, durante los últimos 400 años ha sido uno de los principales alimentos que han permitido mitigar la hambruna después de distintos conflictos bélicos y económicos (Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura. NTAGRI, 2017). En México la producción de papa tiene una gran importancia por ser un cultivo de alto valor agregado y por los empleos que genera de forma directa o indirecta, sobre todo en época de cosecha. Sin embargo, México ocupa el lugar 31^o en la producción mundial de este importante tubérculo, que produce alrededor de 1.8 millones de toneladas (Haro, 2019). El cultivo de papa es uno de los cultivos hortícolas comestibles que más agroquímicos utiliza, ya que el control químico es la forma más práctica de su manejo fitosanitario. Los tratamientos fitosanitarios que se utilizan en este cultivo para el control de enfermedad consisten en el uso de fungicidas y el desarrollo de variedades resistentes, sin embargo, han resultado ineficaces ante la aparición de razas nuevas de patógenos (Mandal *et al.*, 2009). Durante los últimos años se ha incrementado la demanda de productos alternos como productos biológicos para el control de plagas y enfermedades o el uso de las moléculas inductoras también llamadas elicitors, los cuales son capaces de desencadenar respuestas de defensa en las plantas (Nasir *et al.*, 2014).

Los elicitores son moléculas capacitadas para estimular cualquier tipo de defensa en la planta. Estos elicitores son preparados para promover diferentes modos de defensa de la planta como la resistencia sistémica adquirida (relacionada al ácido salicílico y proteínas), resistencia sistémica inducida (activada por cepas bacterianas de rizobacterias saprofitas), y resistencia local adquirida (desencadenada por la respuesta hipersensible de la planta y la producción de fitoalexinas) (INTAGRI, 2017).

Actualmente, el uso de los elicitores ha mostrado una gran prioridad como alternativa para la producción de compuestos bioactivos, enzimas y metabolitos secundarios para el crecimiento, desarrollo y defensa de los cultivos Serrano-Cervantes *et al.*, (2016).

Las enzimas son moléculas proteicas que aceleran las reacciones químicas que se producen en la planta, reduciendo la energía de activación para que las raíces puedan absorber los nutrientes más rápidamente y fácilmente Ramírez *et al.*, (2014).

La aplicación de la biotecnología vegetal en la agricultura ha aportado un gran avance en los últimos 20 años y las técnicas de cultivo de tejidos vegetales han tenido un soporte primordial para estos avances (Gonzales *et al.*, 2010). Se hace uso de la técnica del cultivo *in vitro* como una alternativa idónea contra los métodos convencionales, ya que permite desarrollar enormemente la productividad, calidad del producto y rendimiento (Rodríguez, 2018).

A nivel mundial, la propagación de papa mediante el cultivo *in vitro* de yemas axilares se utiliza comúnmente para la producción de plantas y microtubérculos, sin embargo, ambos constituyen el material vegetal inicial de un programa de producción de semilla de papa, libre de patógenos, que se obtienen en condiciones asépticas y controladas, en un medio de cultivo artificial y pueden ser transferidos, dando lugar a minitubérculos

que posteriormente pueden ser usados en otros esquemas de multiplicación para lograr tubérculos semilla. Asimismo, pueden emplearse para el intercambio y la conservación de germoplasma (Estrada *et al.*, 1986; Struik y Lomme, 1990; Ahloowalia, 1994; Ranalli *et al.*, 1994; Gopal *et al.*, 2004).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar tres elicitores en condiciones *in vitro* y campo para su evaluación de su efecto sobre el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

1.1 Hipótesis

1.1.1 Hipótesis General

El uso de elicitors permitirán mejorar el vigor y la calidad de la producción del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), en campo y en condiciones *in vitro*.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar la respuesta de tres elicitors en diferentes concentraciones en condiciones de campo e *in vitro* en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

1.2.2 Objetivos Específicos

- 1) Evaluar el efecto de los elicitores sobre el crecimiento y rendimiento de las plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en campo.
- 2) Determinar el efecto de los elicitores sobre la producción de enzimas sobre la resistencia a polifenol-oxidasa en el cultivo.
- 3) Evaluar el efecto de los elicitores sobre la producción de la capacidad antioxidante (DPPH) en cultivo en campo.
- 4) Cuantificar el porcentaje de oxidación y viabilidad de explantes en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones *in vitro*.
- 5) Determinar la respuesta morfogénica, crecimiento y multiplicación celular, en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones *in vitro*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen del Cultivo de Papa

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es originaria del norte de Tílica, en los Andes del sur de Perú. Los primeros cultivares fueron seleccionados hace 6,000 a 10,000 años atrás. Entre las especies más destacadas están *Solanum bukasovii*, *S multisectum* entre otros. Este cultivo se sembraba en las regiones costeras de Chile, donde se habrían dispersado hacia el resto del mundo, conociéndose colectivamente como *Solanum tuberosum* (Rodríguez, 2010).

En Perú cuentan con una amplia diversidad genética y que todavía se desarrolla en pequeñas parcelas en más de 300 mil hectáreas a nivel nacional (Liza *et al.*, 2019).

Para los pueblos nativos de América, la papa era el principal alimento disponible y de hecho, se cultivaron muchas variedades incluso en zonas que rozaban los 4.000 metros de altitud, por lo que las propiedades nutricionales de las variedades variaban de forma considerable (Borja-López, 2017).

2.1.1 Importancia del cultivo de papa

A nivel mundial el cultivo de papa ocupa el cuarto lugar, por su alta producción, después del trigo, el arroz y el maíz. Este tubérculo se encuentra entre los diez alimentos más importantes producidos en los países en vías de desarrollo (Martín, 2015).

La papa es uno de los cultivos más adaptables y con perfil alimenticio del mundo, tiene un gran valor nutricional que permite alcanzar la comercialización como mínimos (García *et al.*, 2019).

La importancia económica de la papa se fundamenta en que, por su elevada capacidad de producción de sustancias alimenticias por unidad de superficie, es tres veces mayor que en los cereales, lo que permite suplir de alimento a un elevado número de personas (Coleman *et al.*, 2001).

Por su valor nutritivo, este cultivo aporta en 100 g de papa fresca: 78% de agua, 2.1% de proteína, 18.5% de almidón, 1.0% de cenizas y 0.1% de grasas. Además, contiene minerales (560 mg de potasio, 50 mg de fósforo, 9 mg de calcio, 7 mg de sodio y 0.8 mg de hierro) y vitaminas (0.1 mg de Tiamina, 0.04 mg de Riboflavina, 20 mg de vitamina C y 1.5 mg de Niacina), lo cual coloca a la papa como uno de los cultivos estratégicos más importantes para contribuir a solucionar los problemas del hambre en el mundo (FAO, 2008. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

2.1.2 Producción a nivel mundial

A nivel mundial el cultivo de papa ocupa el cuarto lugar, por su alto nivel de producción después del maíz, el arroz y el trigo. Se producen alrededor de 385 millones de t de papa en el mundo, dónde China es el principal productor, continuando con la India, Estados Unidos, Rusia y Alemania (Haro, 2019).

La superficie mundial de papa en la actualidad es muy similar a la de 1990, pero hay una enorme diferencia en rendimiento y producción. Hace treinta años, los productores alcanzaban rendimientos promedio de 15 t ha^{-1} , más de un 40% menos que en 2019. La producción total en 1990 fue de 266.825 millones de t, un 39% menos que en 2019. La mayor superficie mundial de papa fue en 2000 cuando se cosecharon 20.090 millones de ha. Si esa área se volviera a cultivar y se repitieran los rendimientos de 2019, la cosecha mundial sería de 429.883 millones de t (Mejía Méndez *et al.*, 2018).

2.1.3 Producción a nivel nacional y local

México ocupa el 31º lugar en la producción mundial de este cultivo, donde la producción nacional alcanza un total de 1.8 millones de t. Este cultivo se produce en 23 estados de la República Mexicana, siendo Sonora el principal estado productor a nivel nacional con el 24.5%, Sinaloa con el 17%, Puebla el 9.85%, Veracruz 8.30% y los demás estados como el Estado de México, Nuevo León, Chihuahua y Baja California Sur. La producción nacional del producto se distribuye como 29%. Para la industria, el 56% para uso fresco y el 15% se trata para la producción de semilla (Haro, 2019). En México, la papa se coloca en el quinto lugar solo por debajo del maíz, frijol, trigo y arroz (Santo, 2017). Según los resultados obtenidos por Sabbagh *et al.*, (2011) sobre la tendencia del consumo de la papa en México, se estimó que para el año 2025 el consumo se incrementará a 21 kg por persona, por lo que son muchas las expectativas de crecimiento del consumo.

El estado de Nuevo León, ocupa el sexto lugar a nivel nacional en superficie cosechada, con un valor estimado de producción de 1,458.8 de millones de pesos, por debajo de Sonora con 3,520.3 miles de millones de pesos y por Sinaloa con 3.107 miles de millones de pesos, esto debido principalmente a los mayores rendimientos obtenidos en Nuevo León, con un precio medio rural (PMR) de 12.100 pesos por t registrado en 2019, mientras que el PMR en Sonora y Sinaloa fue de 7.500 y 8.480 pesos por t, respectivamente (Lemus *et al.*, 2020).

2.1.4 Consumo de papa en el mundo

En las últimas décadas, los europeos han liderado el consumo de este rubro. La región destaca un aporte equivalente al 87% superior al consumo per cápita promedio mundial que llega hasta el 30% (Linares y Alejandro, 2001). Sin embargo, en algunas regiones, como el norte de África y el Medio Este, es un cultivo de exportación muy importante que genera ingresos significativos de moneda extranjera (Horton, 1988).

2.1.5 Usos de la papa

La papa es un cultivo básico económicamente importante que prevalece en todo el mundo con una producción, consumo a gran escala, así como una fácil disponibilidad en el mercado. Las papas proporcionan nutrientes básicos como carbohidratos, fibra dietética, vitaminas y minerales (potasio, magnesio y hierro). La ingesta dietética de papas, especialmente las papas de colores, juega un papel importante en la producción del sistema de defensa antioxidante al proporcionar nutrientes

antioxidantes esenciales, como vitaminas, β -caroteno, polifenoles y minerales (FAO, 2008; Zaheer y Humayoun, 2014).

Debido a su naturaleza como alimento estable, las papas son una fuente importante de vitamina C, B6 (píroxidina), B9 (folato) y una gran cantidad de macro y microminerales. Los cuales son responsables de mantener la homeostasis y retrasar el inicio y la progresión de enfermedades degenerativas. Los minerales y en menor medida las vitaminas pueden sobrevivir al procesamiento y métodos de cocción. Además, los estudios genéticos han identificado que existe una significativa variación en estos componentes con el potencial de ser explotados mediante el mejoramiento. Otros componentes no nutritivos pero beneficiosos para la salud identificados en papa, han sido los carotenoides y los polifenoles (Zaheer y Humayoun, 2014; Anon, 2017).

2.1.6 Clasificación taxonómica y características morfológicas de la papa (*Solanum tuberosum*. L)

La papa (*Solanum tuberosum* L) pertenece a la familia Solanaceae, es una planta herbácea, dicotiledónea, provista de un sistema aéreo y otro subterráneo de naturaleza rizomatosa del cual se originan los tubérculos. La planta de papa según las variedades presenta un crecimiento erecto o semierecto. Los tubérculos son tallos modificados y constituyen los órganos de reserva de la planta; varían en tamaño, forma y color de la piel y masa. Las yemas u ojos del tubérculo maduro permanecen latentes (dormancia) hasta que desarrollan un estolón de donde se origina una nueva planta. Las hojas son compuestas y la flor es bisexual. El fruto maduro es una baya generalmente de color verde oscuro y contiene las semillas, denominadas semillas botánicas, para

diferenciarlas del tubérculo-semilla (Márquez-Vasallo, *et al.*, 2020; Egúsquiza, (2012).

En el Cuadro 1 se presenta la clasificación taxonómica de la especie.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la especie (Diaz, 1990; Márquez-Vasallo, *et al.*, 2020)

Reino	Vegetal
División	Tracheophyta
Subdivisión	Pterodidea
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotiledoneae
Orden	Sonales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Subgénero	Potatoe (G. Don.)
Sección	Petota Dumort
Subsección	Potato G. Don
Especie	<i>Tuberosum</i>

2.1.7 Descripción

Montaldo (2010), menciona que la papa es una planta suculenta, herbácea y anual por los tallos aéreos y perene por sus tubérculos (tallos subterráneos) que se desarrolla al final de los estolones que nacen del tallo principal. También Egúsquiza, (2012) menciona que la papa es un conjunto de tallos aéreos y subterráneos. En la (Figura 1). Se describió la morfología de la planta de papa (*Solanum tuberosum*. L).

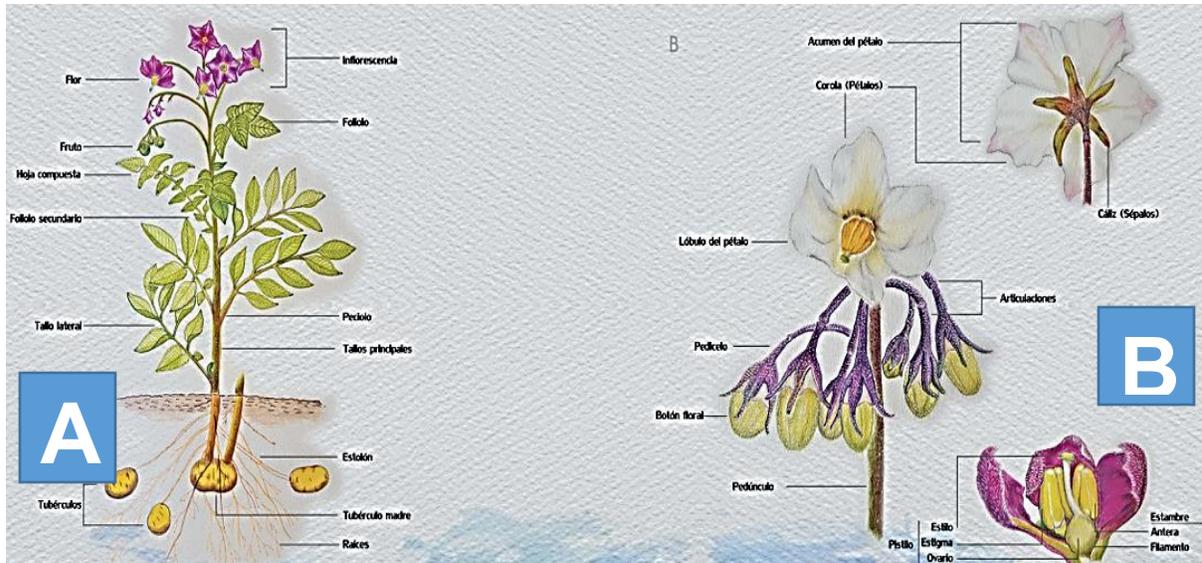


Figura 1. Morfología de la planta de papa (*Solanum tuberosum*. L). **A.** Planta completa de papa nativa. **B.** Morfología floral. Diagramado ilustrado por: Morales-Puentes, M.E. (2021).

2.1.7.1 Brote

Según Egúsqiza (2000), menciona que los brotes crecen de las yemas que se encuentran en los ojos del tubérculo y el color es una característica varietal importante. Los brotes pueden ser blancos, parcialmente coloreados en la base o el ápice, o casi totalmente coloreados. Los brotes blancos, cuando se exponen indirectamente a la luz, se tornan verdes. El extremo basal del brote forma normalmente la parte subterránea del tallo y se caracteriza por la presencia de lenticelas. Después de la siembra, esta parte rápidamente produce raíces y luego estolones o tallos laterales. El extremo apical del brote da origen a las hojas y representa la parte del tallo donde tiene lugar el crecimiento del mismo.

2.1.7.2 Tallo

El sistema consta de tallos, estolones y tubérculos. Las plantas procedentes de semilla verdadera tienen solo un tallo principal, sin embargo, las procedentes de tubérculos-semilla pueden originar varios tallos. Los tallos laterales son ramas de los tallos principales. En el corte transversal, los tallos de papa presentan formas entre circulares y angulares. A menudo, en los márgenes angulares se forman alas o costillas. Las alas pueden ser rectas, onduladas o dentadas Egúsqiza, (2000).

Egúsqiza (2000), menciona que el tallo generalmente es de color verde y algunas veces puede ser de color marrón-rojizo o morado. Los tallos pueden ser sólidos o parcialmente tubulares debido a la desintegración de las células de la médula. Las yemas que se forman en el tallo a la altura de las axilas de las hojas pueden desarrollarse para llegar a formar tallos laterales, estolones, inflorescencias y, a veces, tubérculos aéreos.

2.1.7.3 Raíz

Según Montaldo (2010), la planta de papa posee un sistema radicular fibroso y muy ramificado, las raíces se desarrollan en verticilo en los nudos del tallo principal, su crecimiento primero es vertical y luego es horizontal de 25 a 50 cm. Egúsqiza (2000), menciona que la raíz es la estructura subterránea responsable de la absorción del agua, se origina en los nudos de los tallos subterráneos y en conjunto forma un sistema fibroso. En las plantas provenientes de semilla sexual la raíz principal es filiforme, con ramificaciones laterales formando un sistema fibroso, mientras la raíz formada a partir de tubérculo (semilla) es fibrosa, no presenta una raíz principal y

posee muchas raíces adventicias, su mayor crecimiento lo desarrolla en los primeros 0.20 m de profundidad, extendiéndose lateralmente de 0.30 hasta 0.60 m (Cortez y Hurtado, 2002; Márquez-Vasallo, *et al.*, 2020; Egúsquiza, (2000).

2.1.7.4 Hojas

La planta de papa presenta hojas alternas al igual que los estolones, las primeras hojas son simples, después están las compuestas, imparipinadas con 3 a 4 hojas laterales y una hoja terminal, entre las hojas laterales hay hojuelas pequeñas de segundo orden (Montaldo, 2010). También Egúsquiza (2000), menciona que la hoja es la estructura que sirve para captar y transformar la energía (luz solar) en energía alimenticia azúcares y almidón. Según Cortez y Hurtado (2002) las hojas son compuestas y presentan un folíolo terminal, algunos laterales y secundarios, pecíolos, raquis y hojas pseudoestipulares.

2.1.7.5 Flor

Según Montaldo (2010), las flores de la papa son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es gamosépalo lobulado, la corola es rotacea pentalobulada, varían de color blanco a púrpura según la variedad con cinco estambres, cada estambre posee dos anteras que producen polen a través de un tubo terminal, gineceo con ovario bilocular. La flor es pentámera tetracíclica, posee cinco estambres de color amarillo, anaranjado y un solo pistilo, pero la inflorescencia de la papa es una cima terminal que puede ser simple o compuesta, sin embargo, el color de las flores es

variable, rosado, blanco, morado (varios tonos) o mezcla de dos colores; las flores generalmente se autopolinizan (Cortez y Hurtado, 2002).

2.1.7.6 Fruto y semilla

Al ser fertilizado, el ovario se desarrolla para convertirse en un fruto llamado baya, que contiene numerosas semillas. El fruto generalmente es esférico, pero en algunas variedades son ovoides o cónicos. Normalmente, el fruto es de color verde, y en algunas variedades cultivadas tienen puntos blancos o pigmentados, o franjas o áreas pigmentadas. El número de semillas por fruto llega a más de 200 según la fertilidad de cada cultivar (Márquez-Vasallo, *et al.*, 2020; Egúsquiza, (2000). También Montaldo, (2010), menciona las semillas son planas, ovaladas y pequeñas (1.000-1.500 semillas/gramo). Cada semilla está envuelta en una capa llamada testa que protege al embrión y un tejido nutritivo de reserva llamado endosperma. Las semillas son también conocidas como semilla verdadera o botánicas, para distinguirlas de los tubérculos-semillas, usados para la producción.

2.1.7.7 Estolón

Los estolones de la papa son tallos laterales que crecen horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas de la parte subterránea de los tallos. Los estolones largos son comunes en las papas silvestres y el mejoramiento de la papa tiene como una de las metas obtener estolones cortos. Los estolones pueden formar tubérculos mediante un agrandamiento de su extremo terminal. Sin embargo, no todos los estolones llegan

a formar tubérculos. Un estolón no cubierto con suelo, puede desarrollarse en un tallo vertical con follaje normal (Márquez-Vasallo, *et al.*, 2020; Egúsquiza, (2000).

2.1.7.8 Tubérculo

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

Según Montaldo, (2010) el tubérculo de papa está compuesto de 2% de cáscara, 75 a 85% de parénquima vascular de almacenamiento y 14 a 20% de médula. Martínez (2009), menciona que la planta de papa es un conjunto de tallos especializados para sostener hojas y flores (tallos aéreos) trasportar azúcares (estolones) y almacenar sustancias y almidones (tubérculos), el tubérculo es el tallo subterráneo que es la porción apical del estolón cuyo crecimiento es fuertemente comprimido u orientado hacia los costados (expansión lateral).

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

2.1.7.9 Fenología de la papa

Este cultivo tiene varias fases fenológicas que pueden llegar a ser críticas durante su desarrollo, las cuales son la formación de estolones, la tuberización o formación de tubérculos y la floración. En la figura 2 se observaron las etapas fenológicas de la planta.

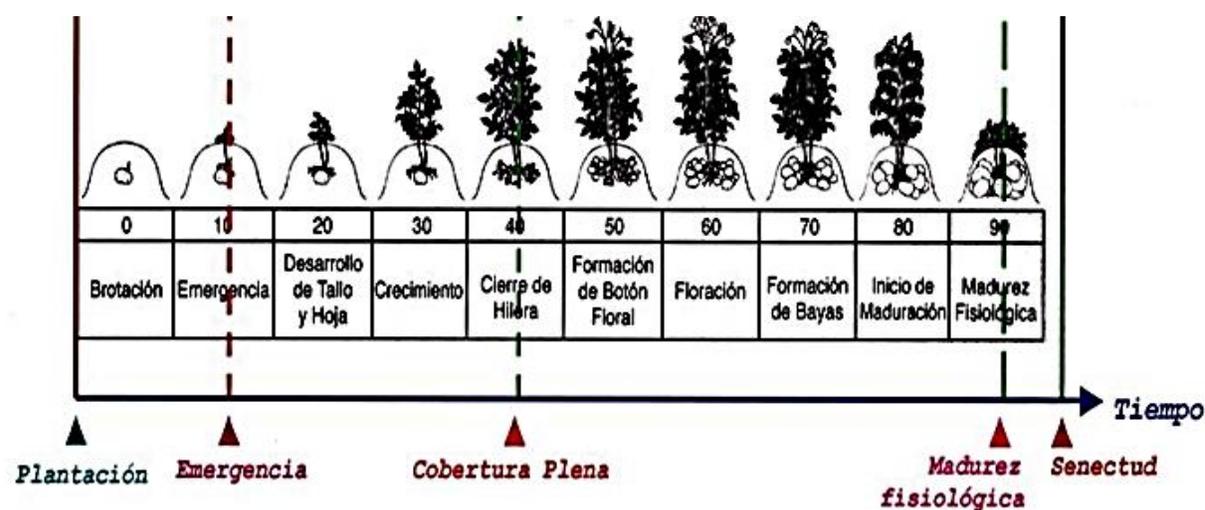


Figura 2. Fenología de la papa

Fuente: Jara, (2014).

En el Cuadro 2 se detalla las características fenológicas de la papa.

Cuadro 2. Fenología de la papa

Etapa	Características	Duración
Dormancia o reposo de semillas	Transcurre entre la cosecha y brotación	2 a 3 meses
Brotación	Comienzan a emerger las yemas de los tubérculos	2 a 3 meses
Emergencia	Los brotes emergen en el campo cuando tienen condiciones adecuadas de temperatura y humedad.	10 a 12 días de plantado

Desarrollo de tallo	Crecimiento del follaje y raíces simultáneamente	20 a 30 días
Tuberización y floración	La flor es señal de la formación de estolones y que inicia la tuberización	Variedades precoces 30 días después de las intermedias 30 a 45 días, tardías 50 a 60 días
Desarrollo de los tubérculos		Variedades precoces a los 75 días. Intermedias a los 90 días. Variedades tardías a los 120 días
	En zonas bajas, templadas y calurosas el ciclo vegetativo de la papa es de aproximadamente 90 días, mientras que en zonas altas y frías oscila entre 120 y 150 días dependiendo de la variedad cultivada.	

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

2.1.8 Requerimientos climatológicos de papa

2.1.8.1 Temperatura

El cultivo de papa es considerado como una planta termoperiódica, es decir, necesita una variación de las temperaturas entre el día y la noche entre 10 a 25 °C en el aire y para la producción de tubérculos debe ser de 10 a 16 °C durante la noche y de 16 a 22 °C en el día (INTAGRI, 2017).

2.1.8.2 Suelo

La papa se puede desarrollar en la mayoría de los suelos, pero es recomendable que sea en suelos con poca resistencia para el crecimiento de los tubérculos. Los suelos más favorables para el desarrollo de la papa son los francos, franco-arenosos, franco-limosos y franco-arcillosos, con buen drenaje y ventilación, que también facilitan la cosecha y con una profundidad efectiva mayor a los 0.50 m, para permitir el libre crecimiento de estolones y tubérculos de la planta (INTAGRI, 2017).

2.1.8.3 Agua

Los requerimientos hídricos para el cultivo de papa varían entre los 600 a 1000 mm por ciclo de producción, eso dependerá de las condiciones de temperatura, capacidad de almacenamiento del suelo y de la variedad de papa (INTAGRI, 2017).

2.1.8.4 Humedad

La humedad relativa para la papa es un factor muy importante para el éxito del cultivo. Se requiere una humedad excesiva durante la germinación del tubérculo y desde la aparición de las flores hasta la maduración del tubérculo (Zúñiga-Chila, 2017).

2.1.8.5 Riego

Pacheco-Seguí y Pérez-Corra, (2010), reportaron que la aplicación 273 mm de agua, es suficiente para el cultivo papa, se recomiendan las láminas y los intervalos de riego por fases fenológicas.

La papa es un cultivo muy sensible al déficit de agua, por lo que no debe agotarse más de un 30 a 35% del total del agua disponible, especialmente durante la formación y crecimiento de los tubérculos. La intensidad de consumo de agua se incrementa considerablemente hasta los 42 días posteriores a la siembra sufriendo ligeros cambios para comenzar a reducirse nuevamente a partir de los 84 días Pacheco-Seguí y Pérez-Corra, (2010). También Vázquez, (1996) reportó que el efecto del déficit de humedad acelera el envejecimiento del cultivo y la reducción del número de tallos en las primeras estaciones vegetativas.

2.1.9 Nutrientes minerales (N, P, K)

El uso de N para el cultivo de papa implica una reducción en las pérdidas de este elemento y un incremento en su absorción, lo que repercute proporcionalmente en el retorno económico (Marouani y Harbeoui, 2015).

Según White *et al.*, (2007) reportaron que la papa es un cultivo que tiene una gran demanda de nutrientes, principalmente nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) durante todo su ciclo. De acuerdo a los resultados obtenidos por Bertha, (2003), se reportó que el cultivo absorbe 220, 20, 240, 60 y 20 kg ha⁻¹ de N, P, K, Ca y Mg respectivamente para una producción de 20 t ha⁻¹.

2.1.10 Principales plagas y enfermedades del cultivo de papa

El cultivo intensivo de la papa tiende a aumentar la incidencia de plagas y enfermedades, lo que a menudo conduce al uso excesivo de pesticidas dañinos.

Aumentar la producción de papa al tiempo que se protege a los productores, los consumidores y el medio ambiente requiere de un enfoque holístico de protección de cultivos que abarque una variedad de estrategias: como alentar a los depredadores naturales de las plagas, el uso de elicitors, desarrollar variedades con resistencia a plagas y enfermedades, plantar semillas de papa certificadas, cultivar tubérculos en rotación con otros cultivos, y utilizar compostaje orgánico para mejorar la calidad del suelo (FAO, 2008).

2.1.10.1 Plagas

El cultivo de papa puede ser atacado por varias plagas como el escarabajo colorado de la papa (*Leptinotarsa decemlineata*), es una de las plagas más destructoras que afectan a los huertos de vegetales, y suelen preferir las plantas de papa, pero también atacan a otros solanáceas, incluyendo los tomates, berenjenas y pimientos, el cual tiene resistencia a insecticidas. Este cultivo puede ser atacado por la Polilla (*Phthorimea/Gnorimoschema operculella*) del tubérculo de la papa es una de las plagas que afecta el cultivo de la papa que pertenece a la familia de los Lepidópteros y es muy importante en regiones de clima cálido y secas. Esta plaga es muy importante a nivel almacén, pero se comporta en campo como una plaga sin importancia económica, sin embargo, el manejo integrado está dirigido solo para proteger los tubérculos a nivel del almacén, pero que debe realizar las prácticas necesarias para la prevención durante las diferentes etapas del cultivo (FAO, 2006; FAO, 2008). La mosca minadora de la papa (*Liriomyza huidobrensis*), es una de las principales plagas que atacan al cultivo de papa en América del sur, en regiones donde se usan insecticidas

intensivos. En los últimos dos décadas se considera a esta plaga como la más dañina de la papa, también puede causar reducciones en la producción mayores al 50%, por lo que se exige a realizar aplicaciones continuas de insecticidas durante el desarrollo del cultivo (Wei *et al.*, 2007). También la papa puede ser atacada por los nematodos del quiste y nudos de las raíces (*Globodera pallida* y *G. rostochiensis*) es una plaga grave del suelo en regiones templadas, los Andes y otras zonas montañosas, que constituye a nivel mundial uno de los problemas fitosanitarios más serios en el cultivo de la papa, tiene la capacidad de enquistamiento, por lo que provee con un sistema de defensa que incrementa las dificultades para su control (FAO, 2006; FAO, 2008; Rueda-Puente *et al.*, 2006).

2.1.10.2 Enfermedades

El cultivo de papa puede ser atacado por diversas enfermedades, como el tizón tardío de la papa, el cual es una de las enfermedades más devastadoras de la papa a nivel mundial, causada por el pseudo hongo (*Phytophthora infestans*) que destruye hojas, tallos y tubérculos, donde se puede observar los primeros síntomas en las hojas, los cuales aparecen como pequeñas manchas acuosas de color verde oscuro, que se propagan rápidamente en zonas café de forma irregular que pueden atacar todo el follaje. También en los tallos se pueden formar lesiones de color café púrpura por infección directa o por extensión de la lesión de los pecíolos de las hojas. Los tubérculos afectados forman lesiones externas de color café púrpura que presentan áreas irregulares, ligeramente hundidas, cuando se corta el tubérculo se puede observar una lesión de color café cobrizo, de textura granular y firme. También la papa

puede ser atacada por la marchitez bacteriana, causada por la bacteria *Pseudomonas solanacearum*, que es una devastadora enfermedad que afecta a varios cultivos de importancia económica a nivel mundial, es una enfermedad que constituye un factor limitante en la producción de papa, especialmente en papa para semilla. (FAO, 2006; FAO, 2008; Naranjo Feliciano *et al.*, 2013).

Según (Bradshaw *et al.*, 2007), la papa puede ser atacado por más de 30 agentes virales que afectan al cultivo en el mundo y causa grandes pérdidas en rendimiento y calidad, entre estos son PLRV, PVY y PVX. El Virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV), causa una de las enfermedades virales más importantes en la papa que afecta el rendimiento y la calidad de los tubérculos. Este virus puede causar grandes pérdidas en rendimiento que pueden llegar hasta un 90%. Este virus se localiza en los tejidos del floema, donde causa necrosis y aumento en la síntesis de calosa, carbohidrato que bloquea el transporte del almidón de las hojas hacia los tubérculos provocando el enrollamiento de las hojas (Gul *et al.*, 2011; González-Franco *et al.*, 2013).

El Virus x de la papa (PVX) se considera como uno de los virus más comunes que infectan al cultivo de la papa y está distribuido a nivel mundial, puede infectar a más de 240 especies de plantas pertenecientes a 16 familias, siendo la Solanaceae la que concentra más hospederos para este virus, también las plantas no muestran síntomas, pero cuando ocurren, el virus puede causar clorosis, mosaicos y reducción en el tamaño de la hoja. Este virus se puede transmitir mecánicamente y hasta ahora no se conocen insectos que actúen como vectores (Burrows y Zitter, 2005; González-Franco *et al.*, 2013). Este virus puede causar pérdidas en producción superiores a 10% (CIP,

1996). Este virus puede ser devastador si se presenta en infecciones mixtas; por ejemplo, cuando existe infección del PVX con el PVY, los síntomas se intensifican y las pérdidas pueden llegar a ser hasta 70% (Bystricka *et al.*, 2005; Ásameles, 2007).

Según Martínez *et al.*, 2001, reportaron que el Virus Y de la papa (PVY), es un virus que está distribuido en todo el mundo y es transmitido por al menos 70 especies de áfidos de manera no persistente no circulativa. También este virus puede causar pérdidas en la producción por las infecciones por el PVY. Este virus se encuentra entre un 10 y un 80% dependiendo del cultivar, las características de la cepa viral, las condiciones de almacenamiento y del control de insectos y maleza; además, la necrosis del tubérculo puede afectar la calidad de los cultivos y reducir aún más el rendimiento comercial (Pérez y Rico, 2004). También este virus puede diseminar mecánicamente y por semilla; sin embargo, los áfidos son el medio más veloz de transmisión, y el vector más eficaz es *Myzus persicae* (Smith *et al.*, 1988; Pérez y Rico, 2004; Burrows y Zitter, 2005).

2.1.11 Elicitores

Los elicitores de inmunidad innata se presentan como el método prometedor de entre las alternativas de control de patógenos, ya que mejoran la vigorización de los tejidos, la calidad en postcosecha, la rentabilidad de la producción y la reducción de costos ya que no supone ningún tipo de riesgo, para el cultivo. Con su uso se puede reducir el uso de pesticidas, ya que no es necesario realizar tantos tratamientos fitosanitarios sobre todo en la época de cosecha (Bazán, 2019).

La inmunidad innata es el mecanismo presente en todas las células eucariontes que les permite generar y fortalecer sus defensas contra microorganismos patógenos. Algunos receptores inducen respuestas de amplio espectro, mientras que otros elicitán procesos de mayor especificidad contra determinados patógenos; Entre los elicitores de inmunidad innata se encuentran algunos oligosacáridos, quito-oligosacáridos y ciertos β -glucanos los cuales inducen una respuesta inespecífica (Rivas, 2012; Bazán, 2019).

Originalmente, el término elicitador se usaba para moléculas capaces de inducir la producción de fitoalexinas, pero ahora se usa comúnmente para compuestos que estimulan cualquier tipo de defensa vegetal (Hahn, 1996; Thakur y Singh, 2013). Según reportes de Sbaihat *et al.*, (2015) y García *et al.* (2018), los métodos amigables con el ambiente para controlar las enfermedades en solanáceas incluyen prácticas agroecológicas, fungicidas orgánicos y control biológico. Pero la resistencia de las plantas contra los patógenos se induce mediante la aplicación de agentes llamados elicitores y conduciría a la prevención de enfermedades o la reducción de la gravedad, así como a un aumento del rendimiento. Varios estudios han reportado que varios elicitores pueden disminuir la severidad de los síntomas de las enfermedades, incrementar la altura, la acumulación de biomasa y evitar la reducción en el rendimiento en las plantas tratadas (INTAGRI. 2017; García *et al.*, 2018). Por otro parte, según Thakur y Singh (2013), los elicitores químicos comúnmente probados son el ácido salicílico, salicilato de metilo, benzotiadiazol, ácido benzoico, quitosano, etc., los cuales afectan la producción de compuestos fenólicos y la activación de varias enzimas relacionadas con las defensas en las plantas.

En la actualidad, el uso de elicitors en la protección de cultivos contra enfermedades y el manejo de plagas se encuentra todavía en las primeras etapas de uso como un nuevo método de control y, por lo tanto, las experiencias actuales provienen de ensayos experimentales y aún no del uso agrícola a gran escala. Se han reportado o pueden esperarse al menos las siguientes ventajas del uso de tratamientos elicitors; Reducción del daño de insectos plagas herbívoros y patógenos (hongos, bacterias y virus), reducción de los peligros ambientales, ya que los elicitors afectan directamente a la planta de cultivo y su toxicidad aguda para otros organismos es menor que la de los plaguicidas, como agroquímicos protectores, los elicitors pueden aplicarse con la tecnología de pulverización actual y sus tratamientos podrían ser una alternativa a las plantas genéticamente modificadas para una mejor atracción de los enemigos naturales de los organismos plaga en las plantas cultivadas (García-Brugger *et al.*, 2006; Thakur y Singh, 2013). Se ha demostrado la existencia de sitios de unión específicos de alta afinidad para los elicitors de oligosacáridos, glicopéptidos, péptidos y se han identificado proteínas de unión a los elicitors candidatos para varios de ellos (Hahn, 1996). La naturaleza del elicitor, dosis y tiempo de tratamiento afecta fuertemente la intensidad de la respuesta de la planta, también puede estimular diferentes clases de metabolitos de defensa en las plantas (Baenas *et al.*, 2014).

2.1.11.1 Receptores celulares

Diversos elicitors estructurales de ciertos patógenos disparan el mecanismo de defensa en plantas. Se asume que los elicitors son reconocidos por receptores. Los receptores de plantas que reconocen elicitors derivados de hongo aparentemente

residen en la membrana plasmática, mientras que los elicitores virales y bacterianos pueden entrar a la célula de la planta y son intracelulares. La función de un receptor comprende el percibir la señal y subsecuentemente activar elementos debajo de la transducción de señales. El reconocimiento de un patógeno puede ser raza-específico o raza-no específico. Los receptores que tienen participación en el reconocimiento raza-no específica tienen afinidad por moléculas conocidas como inductores generales estimulando la defensa en todos los cultivares de al menos, una especie de planta a un amplio rango de patógenos (Dicke y Hilker, 2003).

2.1.11.2 Los Inductores como moléculas de reconocimiento

El reconocimiento del patógeno juega un papel central en la interacción hospedero-patógeno. Las plantas han desarrollado mecanismos sofisticados para detectar a un patógeno potencial y activar varios y diversos mecanismos de defensa. Las moléculas que inducen el reconocimiento son conocidas como inductores. El término "inductor" se utiliza comúnmente para denominar a aquellas moléculas naturales (bióticas), procedentes de la planta (inductor endógeno) o del fitopatógeno (inductor exógeno), que son capaces de inducir respuestas estructurales y/o bioquímicas asociadas a la resistencia de la planta frente al organismo que las ataca (Spoel y Dong, 2012).

2.1.12 Cultivo de tejidos vegetales como alternativa biotecnológica

La técnica del cultivo *in vitro* se muestra como una alternativa idónea contra los métodos convencionales, ya que permite desarrollar enormemente la productividad, calidad del producto y rendimiento (Rodríguez, 2018).

La aplicación de la biotecnología vegetal en la agricultura aporta un gran avance significativo en los últimos veinte años y las técnicas de cultivo de tejidos vegetales han tenido un soporte primordial para estos avances (Gonzales *et al.*, 2010).

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* se ha podido desarrollar gracias a la totipotencialidad que tienen las células vegetales, permitiendo desarrollar un nuevo ser biológico a partir de algo más simple como un órgano; esta totipotencialidad se ha definido de una mejor forma como la capacidad que tienen las células no diferenciadas (meristemáticas) para llegar a ser diferenciadas y cumplir una función específica dentro del organismo del cual hacen parte. En este orden, se puede definir un cultivo vegetal *in vitro* como el aislamiento de un órgano o tejido vegetal en un medio específico con nutrientes necesarios, condiciones óptimas y aprovechando las características totipotenciales y fenotípicas altamente estables para maximizar su desarrollo (Cortes *et al.*, 2017).

A causa del incremento de la población mundial y las afecciones de plagas y enfermedades de la papa, el interés por la biotecnología vegetal se ha enfocado en la producción de plantas *in vitro* que tiene como aplicaciones principales la conservación del germoplasma, intercambio genético y producción de plantas sanas. Los explantes de papa usados han sido hoja, tallo o tubérculo, sin embargo, explantes obtenidos de meristemos pueden emplearse como material inicial para la obtención de plantas

sanas ya que, la distribución de microorganismos en el tejido de la planta es desuniforme y su progresión hacia el ápice del tallo es baja (García Águila *et al.*, 2001; Gonzáles Castillo y Chavarría Reyes, 2016).

A nivel mundial, la propagación de papa mediante el cultivo *in vitro* de yemas axilares se utiliza comúnmente para la producción de plantas y microtubérculos, sin embargo, los dos constituyen el material vegetal inicial de un programa de producción de semilla de papa, libre de microorganismos patógenos, que se obtienen en condiciones asépticas y controladas, en un medio de cultivo artificial y pueden ser transferidos, donde dan lugar a minitubérculos que posteriormente pueden ser usados en otros esquemas de multiplicación para lograr tubérculos semilla. Asimismo, pueden emplearse para el intercambio y la conservación de germoplasma (Estrada *et al.*, 1986; Struik y Lomme, 1990; Ahloowalia, 1994; Ranalli *et al.*, 1994; Gopal *et al.*, 2004).

La propagación *in vitro* de especies vegetales permite evaluar propiedades específicas a la hora de sembrar cada especie vegetal. Algunas características pueden ser controladas en el laboratorio para determinar su actividad biológica vegetal, por ejemplo, el proceso de aclimatación, la velocidad de crecimiento, la viabilidad, la regeneración, etc. Es así como se han desarrollado cultivos *in vitro* para algunas especies de papa (Cortes *et al.*, 2017).

La propagación de la papa puede ser sexual, mediante la obtención por la fertilización del ovario, o asexual a partir de tubérculos, secciones del tubérculo y partes de la planta mediante cultivo *in vitro* (Larios-Mejía *et al.*, 2013).

En la regeneración *in vitro* es de gran importancia el desarrollo de la organogénesis, la cual hace referencia a la capacidad de las células vegetales que se encuentran en el explante para reprogramar su desarrollo hacia la formación de tejidos y órganos nuevos que constituyen una planta (Smith, 2012). La organogénesis requiere que las células susceptibles de esta reprogramación genética, sean competentes y receptivas a procesos de dediferenciación y diferenciación celular (Thorpe, 2014).

Existen dos tipos de organogénesis: la organogénesis directa y la indirecta. Se diferencian en que la primera se da sin la ocurrencia de un proceso prolongado de dediferenciación, mientras que en la segunda se ve acompañado de la formación de masas celulares indiferenciadas denominadas callo, previo a la formación de brotes (Acosta, 2012).

2.1.12.1 Organogénesis

La organogénesis, se considera como uno de los principales métodos de regeneración de plantas o la manifestación de la totipotencia celular, donde se puede clasificar en indirecta y directa. La organogénesis indirecta es cuando la formación de brotes ocurre mediante una fase intermedia de formación de callos, mientras que la organogénesis directa, consiste en la propagación a partir de explantes, sin fases intermedias de callo (George y Debergh, 2008). Zeladon (2006), indica que la organogénesis es el proceso por el que las células y tejidos son forzados a sufrir una serie de cambios que tiene como resultado final una estructura unipolar, ya sea un primordio de brotes o de raíz cuyo sistema vascular está a menudo conectado con el tejido madre.

Ormachea (2008), manifiesta que la organogénesis *in vitro* esta generalmente compuesta de tres fases distintas, con dependencias variables de fitohormonas exógenas: La primera fase, en la cual las células se des-diferencian para adquirir capacidad organogénica; la segunda fase, en la que las células des diferenciadas son determinadas a formar un órgano específico en respuesta a la presencia de fitohormonas exógenas; la tercera y última, es aquella en donde la morfogénesis del órgano procede independientemente de la adición de fitohormonas, la primera fase puede ser subdividida, además, en dos sub-fases: Células que adquieren capacidad para la proliferación y organogénesis de raíces, Células que adquieren capacidad para la formación organogénica de plantas completas.

2.1.12.2 Organogénesis directa

La Organogénesis directa a partir de brotes de un tejido en el cual no hay estadio de callo es denominado organogénesis directa. Las plantas *in vitro* se propagan clonalmente por organogénesis directa para mejorar los rangos de multiplicación, así como para obtener plantas transgénicas, si bien es más frecuente la descripción de protocolos de transformación genética vía organogénesis indirecta Cardozo, (2005). En la organogénesis directa, los meristemas regenerados pueden originarse a partir del floema interno o externo, células parénquimas y/o epidérmicas. Este proceso morfogenético resulta ventajoso cuando se requiere mantener la estabilidad genética en plantas regeneradas Medina, (1991).

2.1.12.3 Organogénesis indirecta

La organogénesis indirecta es el sistema de regeneración más utilizado para fines de modificación genética, debido a que la formación de callos permite la selección de células y, posteriormente, la obtención de plantas genéticamente modificadas. Sin embargo, el sistema de regeneración indirecto tiene la desventaja de presentar una mayor tendencia de sufrir variación somaclonal. La regeneración de plantas a partir de explantes cultivados implica el inicio de callo y luego disparar la diferenciación de yemas. Establecimiento del crecimiento de callos con la organogénesis posterior se ha obtenido de muchas especies de plantas y de numerosos explantes a saber cómo cotiledones, hipocótilo, hoja del tallo, ápice del brote, raíz, inflorescencia joven, pétalos de flores, pecíolos, embriones, etc (Gurel *et al.*, 2011).

La organogénesis indirecta, es el desarrollo de masas de células desorganizadas y en proceso de desdiferenciación y rediferenciación denominado callo Adobkar *et al.*, (2012). Los callos se desarrollan cuando los explantes son cultivados en un medio con distintos niveles de auxinas y citoquininas, los cuales interactúan con los fitorreguladores endógenos para llegar a un equilibrio para la formación de órganos (organogénesis), una vez llegado a esto la producción de callo se detiene Cardoza, (2005). Este proceso involucra la diferenciación celular que a su vez refleja la expresión de la totipotencia celular, interacción celular y la reacción a señales específicas Yepes, (2006).

2.1.12.4 Factores que afectan la organogénesis

La estación del año, las condiciones donantes de la planta, la edad y el estado fisiológico de la planta madre contribuye al éxito de la organogénesis. En cultivos celulares, se utilizan varios medios de cultivo para la organogénesis que incluye MS (Muroshige y Skoog, 1962), B5 (Gamborg, 1969), blanco medio (White, 1963) y SH (Schenk y Hildebrandt, 1972), vitaminas y carbono (Vásquez *et al.*, 2020).

La concentración del regulador de crecimiento en el medio de cultivo es fundamental para morfogénesis. Skoog y Miller, (1957), indicaron por primera vez su papel en la morfogénesis. La auxina en una concentración moderada a alta es la principal hormona utilizada para producir callos. A menudo, el 2,4-D, una auxina muy potente, se usa sola para iniciar los callos. En algunas especies, una alta concentración de auxina y una baja concentración de citoquinina en el medio promueve la proliferación celular abundante con la formación de callo (Guillén *et al.*, 2015; Sluis y Hake, 2015).

El tejido del callo se compone de células vacuoladas diferenciadas irregularmente intercaladas con células meristemáticas más pequeñas. La naturaleza de cualquier callo depende del tejido del explante y también de la composición del medio utilizado para inducirlo y mantenerlo. El callo puede subcultivarse en serie y cultivarse para períodos prolongados, pero su composición y estructura pueden cambiar con el tiempo, a medida que ciertas células son favorecidas por el medio y llegan a dominar el cultivo. La transferencia de piezas de callo a las condiciones que apoyan el crecimiento organizado conduce a la formación de meristemoides, también denominados centros de crecimiento (Cob *et al.*, 2010; Guillén *et al.*, 2015).

2.1.12.5 Organogénesis directa e indirecta en papa (*Solanum tuberosum* L.).

La organogénesis directa e indirecta constituyen método de regeneración de gran valor al cultivo de papa, su aplicación más antigua se ha enmarcado en la propagación masiva de plantas libre de patógenos donde muchos colabores realizaron diversos trabajos. Suárez Cardoso *et al.*, (2011), Desarrollaron un protocolo de organogénesis directa en *Solanum tuberosum* L, a partir de segmentos de hoja, para la inducción de brotes organogénicos, donde se registró un promedio alto de formación de brotes (4.83) en explantes cultivados en medio MS suplementado con 2.0 mg L⁻¹ de BAP y 0.1 mg L⁻¹ de AIA, bajo condición de luz por un periodo de 30 a 15 días oscuridad/luz. Inmediatamente de la inducción, los brotes obtenidos fueron transferidos a medio MS suplementado con 0.3 mg L⁻¹ L de Giberelina, y mantenidos en condiciones de luz en el cual también enraizaron.

Jiménez Barreto *et al.*, (2009), evaluaron diferentes combinaciones fitohormonales en la regeneración de *Solanum tuberosum* Var. Pastusa Suprema a partir de explantes internodales, reportaron que la presencia de ANA demostró ser esencial en la respuesta callogénica y regenerativa de los explantes. Se mencionó que la adición de 3.0 mg L⁻¹ de Zeatina, 0.02 mg L⁻¹ de ANA y 1.0 mg L⁻¹ de ácido gibelérico sobre un medio básico MS, fue una formulación hormonal adecuada para inducir el proceso de organogénesis indirecta sobre la variedad de papa Pastusa Suprema donde se produjo callogenesis y regeneración con un porcentaje superiore al 90%

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Etapa uno. Experimento en Campo

3.1.1 Localización del estudio

El presente trabajo de investigación fue realizado en la Unidad Académica Marín y de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) durante el periodo de abril de 2020 a enero de 2021. La Unidad Académica Marín se encuentra en las coordenadas 25° 53' latitud Norte y 100 ° 03' longitud Oeste, con una temperatura promedio anual de 22°C y una precipitación anual promedio de 573 mm y una elevación de 375 msnm (García *et al.*, 2018). (Figura. 3).



Figura 3. Ubicación del Experimento. Laboratorio de Biotecnología Vegetal en la Unidad Académica Marín.

3.1.2 Origen del material vegetal

Se utilizaron los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad “Fianna” procedente del Perote, Veracruz, México con un ciclo agrícola promedio de 110 a 120 días. Ubicado en las coordenadas 19° 22' y 19° 39' de latitud norte y los meridianos 97° 06' y 97° 26' de longitud oeste, con una altitud entre 340 y 4,200 m y un rango de temperatura 2–14°C, con precipitación de 300 a 1 300 mm (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (INEGI, 2016).

3.1.3 Siembra del cultivo y diseño experimental

La siembra se realizó el 21 de abril de 2020 en bolsas de polietileno para vivero de 20x20 cm con sustrato constituido por una mezcla con 2/3 partes de suelo de la región y 1/3 parte de estiércol ovino. En cada bolsa se colocó un microtubérculo a 5 cm de profundidad, las bolsas se colocaron a una distancia de 10 cm. (Figura.4)

En este estudio se evaluaron cuatro tratamientos con cuatro repeticiones en el diseño experimental al azar. Los tratamientos fueron designados de la siguiente manera: un tratamiento testigo (Control) con plantas sin aplicación de elicitores; y los otros tratamientos con aplicación de elicitores (Cuadro 3). Se realizaron cuatro aplicaciones de los elicitores, dónde la primera aplicación fue el mismo día de la siembra directamente al suelo antes del establecimiento, las siguientes tres aplicaciones se realizaron a los 21, 43 y 65 días en las hojas de las plantas durante el desarrollo del cultivo para los noventa días que duró el experimento. Los elicitores se prepararon en

solución y se asperjaron a las hojas de las plantas, con una dosis de 2.5 g L⁻¹ para Activane, 2.5 ml L⁻¹ para Micobiol y de 2.5 g L⁻¹ para Stemicol.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados en campo en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Tratamiento	Elicitores	Dosis
T1	Control	0.0
T2	Activane	2.5 g L ⁻¹
T3	Micobiol	2.5 mL L ⁻¹
T4	Stemicol	2.5 g L ⁻¹



Figura 4. Bolsas de polietileno con sustrato constituido por una mezcla con 2/3 partes de suelo de la región y 1/3 parte de composta de origen animal, utilizadas en el experimento en campo.

3.1.4 Análisis estadístico

Este experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. En la Figura 5 se presenta el croquis del experimento.

Croquis de la Investigación.

T1: Control

T2: Activane®

T3: Micobiol®

T4: Stemicol®

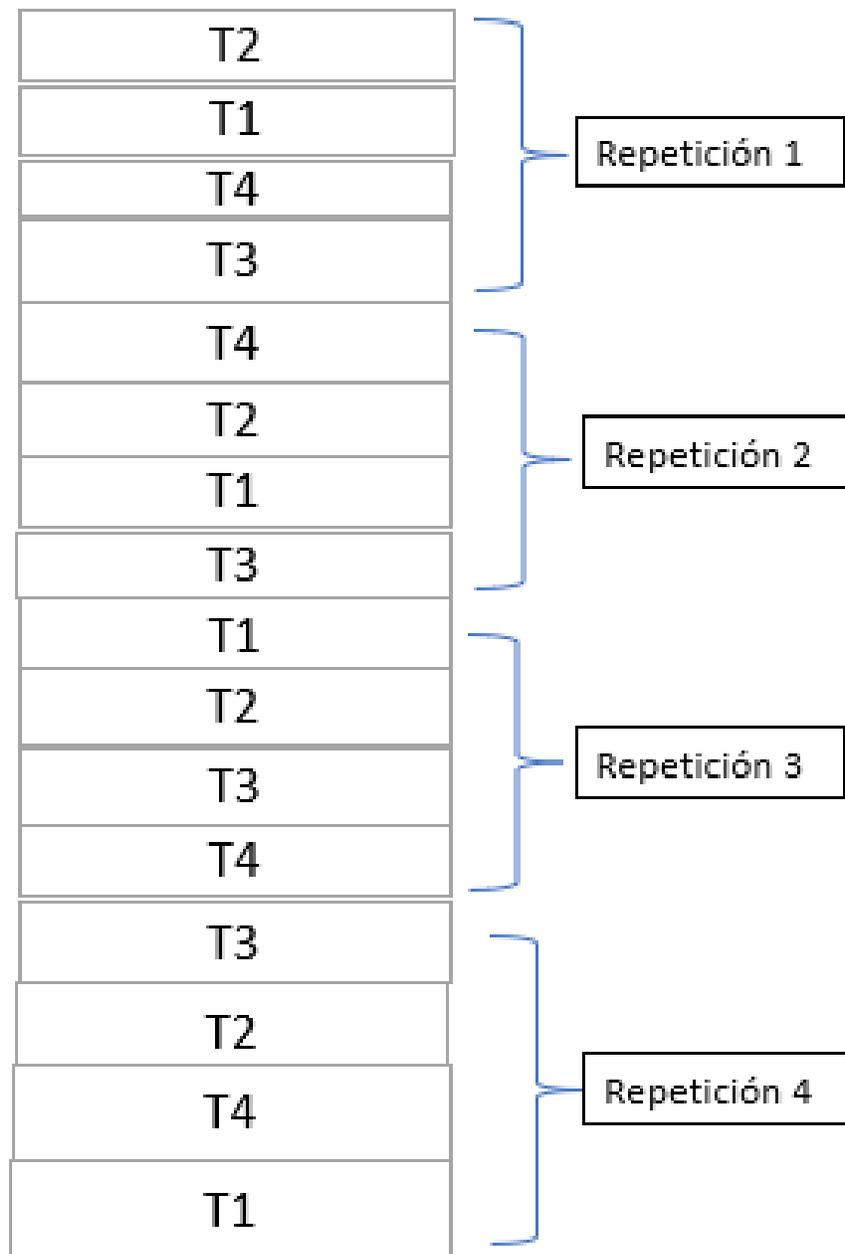


Figura 5. Mapa del diseño experimental en campo.

3.1.5 Descripción del diseño experimental y tratamientos

En la figura 6 se describió el diseño experimental y los tratamientos con diferentes aplicaciones de elicitores.



Figura 6. Plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna con cuatros aplicaciones de elicitores a los 21 días. **A.** T1 Control; **B.** T2 Activane; **C.**T3 Micobiol; y **D.** T4 Stemicol.

3.1.6 Evaluación de variables

La evaluación de las variables de interés como la altura, número de tallos por planta, longitud de tallos por planta y número de hojas se realizó en diferentes fechas del desarrollo de las plantas. Después de la primera aplicación de elicitores a los 21 días se tomaron los datos como la altura, número de tallos por planta, longitud de tallos por planta y número de hojas, luego las mismas fueron tomadas a los 43 y 65 días. Una vez cosechados los tubérculos, se contaron y se pesaron para calcular el rendimiento (g) y el número de tubérculos por planta.

Las variables estudiadas se evaluaron de las siguientes manera: la altura de planta se midió desde la base de la misma hasta el ápice, se contabilizó el número de hojas por planta y para el número de tallos por planta se hizo el conteo de cada tallo por planta; para número de tubérculos se hizo el conteo para todas las plantas cosechadas y el peso promedio por tubérculo se determinó en gramos. La toma de los datos se efectuó a los 21, 43 y 65 días posteriores al trasplante, tomando los datos de las plantas al azar de cada unidad experimental.

3.1.7 Obtención del extracto enzimático

Para la determinación enzimática se siguió el procedimiento reportado por Muñoz *et al.*, (2007) con algunas modificaciones. Se pesó 1.0 g de material vegetativo (hojas), que fueron homogeneizados con 5 mL de buffer de fosfatos 0.1 M, con 7.0 de pH. El extracto obtenido se depositó en tubos de centrifuga de 15 mL y posteriormente se centrifugó a 5000 x giros durante 5 min a 4°C. El sobrenadante se recolectó y se depositó en tubos Eppendorf de 1.5 mL envueltos en papel aluminio y se mantuvieron en refrigeración a -20°C hasta su uso. (Figura.7)



Figura 7. Proceso de extracto enzimático en las hojas de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna, al final del experimento en Campo.

3.1.8 Evaluación de la actividad enzimática de polifenol-oxidasas

La actividad polifenol-oxidasas (PPO) (EC 1.14.18.1 o EC 1.10.3.2) se determinó por la medida de cambio de coloración, indicada por un incremento en la absorbancia a 420 nm. Se utilizó buffer fosfato pH 7.0 y 500 ppm de ácido gálico, como sustratos. Todas las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo en un espectrofotómetro UV (Gasull y Becerra, 2006). Para la determinación de la actividad enzimática se prepararon las siguientes mezclas descritas en el (Cuadro 4).

Cuadro 4. Sustratos utilizados para determinar actividad enzimática de polifenol-oxidasas en Hoja de Papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tubos	Buffer fosfato pH 7,0	Ácido gálico 500 ppm	Extracto enzimático	Volumen total
RX	1000 µL	300 µL	200 µL	1500 µL
BE	1300 µL	-	200 µL	1500 µL
BS	1200 µL	300 µL	-	1500 µL

Las mezclas se incubaron a 40 °C durante 2 min, posteriormente se añadieron al tubo RX y BE 200 µL de extracto enzimático y se incubó la mezcla final de ensayo a 40 °C durante 1 hora. Se determinó la absorbancia a 420 nm de las mezclas RX y BS frente a la mezcla blanco (BE). (Figura. 8)



Figura 8. Proceso de extracto enzimático en las hojas de papa para determinar la actividad enzimática.

3.1.9 Determinación de inhibición de radicales DPPH

La capacidad antioxidante de la DPPH se midió por la metodología Kuskoski *et al.*, (2005). Se realizó el mismo procedimiento para la solución patrón de ácido gálico utilizado como estándar. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm empleándose un espectrofotómetro de modelo SP-830 plus. El mismo tratamiento se utilizó para los extractos. El análisis se realizó por triplicado. Finalmente, se determinó el porcentaje de reducción de la DPPH (Q), tanto para las muestras (extracto enzimático), como para las diluciones de ácido gálico.

El procedimiento consistió en preparar una solución stock de ácido gálico a una concentración de 200 ppm y se realizó la curva de calibración. Con los datos del (Cuadro 5).

Cuadro 5. Sustratos utilizados para determinar la capacidad antioxidante de la DPPH en hoja de papa (*Solanum tuberosum* L) de la variedad Fianna.

Curva de calibración de ácido gálico			
[ppm]	µL de solución Stock	µL de H₂O	Volumen final
0	0	1000	1 mL
20	100	900	1 mL
50	250	750	1 mL
70	350	650	1 mL
90	450	550	1 mL
110	550	450	1 mL
150	750	250	1 mL

Se preparó una solución con DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) diluido en metanol a una concentración de 60 µM. Se colocó en tubos de ensayo según la cantidad de muestras a analizar y concentraciones de la curva de calibración. Se tomaron 50 µL de cada concentración de la curva de calibración en sus tubos de ensayo correspondientes. Luego se tomaron 50 µL de la muestra a analizar en sus tubos de ensayos correspondientes (Considerando el factor de dilución de la muestra). Se agregó 2950 µL del reactivo DPPH a cada tubo de curva de calibración y de muestra a analizar. Se homogenizó para mantener en incubación por 30 minutos en oscuridad y leyeron las absorbencias a una longitud de onda de 517 nm.

Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias por la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) con el programa SPSS. (Statistical Package for the Social Sciences). (SPSS)

3.2 Etapa dos. Experimento de Laboratorio

3.2.1 Localización del experimento

El segundo experimento se realizó en el periodo de enero a octubre de 2021, en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Facultad de Agronomía, UANL, localizado en el Campus de Ciencias Agropecuarias en la Col. Ex Hacienda el Canadá, Av. Francisco Villa s/n, General Escobedo, N.L. (Figura.9).



Figura 9: Ubicación del Experimento **A.** Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Campus de Ciencias Agropecuarias, Gral. Escobedo, Nuevo León. **B.** Vista frontal del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales.

3.2.2 Proceso de acondicionamiento del material de campo

Los tubérculos fueron lavados con jabón líquido y enjuagados con agua potable, colocarlos en una solución bactericida-fungicida con benomilo y oxitetraciclina a una dosis de $1:1 \text{ g L}^{-1}$. En esta solución los tubérculos fueron sumergidos durante dos horas y se enjuagaron con agua potable, se dejaron secar a temperatura ambiente durante una semana, posteriormente se colocaron en condiciones de incubación a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, y en completa obscuridad durante cuatro semanas con la finalidad de estimular la

inducción de brotes. Posteriormente fueron crecidos por dos semanas en las mismas condiciones de temperatura, pero con fotoperiodo de 16 h luz ($54 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y 8 h de oscuridad con la finalidad de eliminar la etiolación de los brotes. (Figura.10).



Figura 10. Acondicionamiento del Material Vegetal en una solución bactericida - fungicida de los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna. **A:** Material Vegetal en una solución bactericida -fungicida, **B:** Tubérculos de papa, **C:** **Secado** el material vegetal a temperatura ambiente.

3.2.3 Proceso de pre-desinfestacion del material vegetal

Los brotes crecidos fueron retirados de los tubérculos y luego se lavaron con jabón líquido y Cloralex® al 1% y se enjuagaron con agua potable. Se preparó una solución de bactericida-fungicida constituida de benomilo 2 g L^{-1} , amistar 2 g L^{-1} , oxitetraciclina 2 g L^{-1} , sacarosa 30 g L^{-1} , ácido cítrico 500 mg L^{-1} , ácido ascórbico 500 mg L^{-1} y bactericida vegetal 2 m L^{-1} , en cual las yemas fueron puestas en agitación durante 40 min. Concluido el tiempo, los explantes se enjuagaron nuevamente con agua purificada hasta eliminar los residuos de la solución y posteriormente se llevó al área de siembra donde se realizó el proceso desinfección bajo condiciones de asepsia. (Figura.11).



Figura 11. Proceso de desinfección del material vegetal. **A:** brotes crecidos, **B:** Brotes listos, **C:** Los brotes en una solución de antifúngico.

3.2.3.1 Establecimiento *in vitro*

3.2.3.2 Medio de cultivo del establecimiento de los explantes

Se utilizaron las sales básicas del medio de cultivo de Murashige Skoog (MS) (1962) con vitaminas, así como 100 mg L^{-1} de mioinositol, 30 g L^{-1} de sacarosa, 4.3 g L^{-1} de Phytigel™, se ajustó el pH a 5.8 ± 0.02 usando NaOH o HCl 1N; continuando a fundir el Phytigel con la ayuda de un microondas durante 7 min, continuando a dosificar en cajas Magenta® con 30 mL de medio por caja. Posteriormente se esterilizaron en una autoclave a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ a 15 libras de presión durante 15 minutos. (Figura.12)



Figura 12. Proceso de preparación del medio de cultivo. **A:** Pesado las sales básicas del medio MS, **B:** Ajuste de pH en el medio de cultivo, **C:** Esterilización de medios de cultivo en la autoclave.

3.2.3.3 Etapa de establecimiento aséptico de los explantes

Los explantes pre- desinfección fueron llevados a una campana de flujo laminar y en condiciones de asepsia se realizó el proceso de desinfección del material vegetal, este fue colocado en una solución de hipoclorito de sodio Cloralex® al 6% de ingrediente activo al 15% v/v más 0.02% de (Tween-20), por 15 min, seguido de tres enjuagues con agua bidestilada estéril. Concluida la desinfección los explantes fueron sembrados en las sales básicas del medio de cultivo de (MS) y se incubaron bajo condiciones controladas de fotoperiodo y temperatura a 16 h luz ($54 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y 8 h de oscuridad a $24 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante las primeras seis semanas del establecimiento *in vitro*, bajo un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. Se evaluaron las siguientes variables: porcentaje de asepsia, número brote, longitud de brotes por explante y número y longitud de raíces. (Figura.13)



Figura 13. Proceso de establecimiento aséptico *in vitro* de explantes de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna. **A:** Explantes en proceso de

desinfestación en la campana de flujo laminar, **B:** Siembra *in vitro* de los explantes en los diferentes tratamientos, **C:** Unidades experimentales en el cuarto de incubación en condiciones controladas.

3.2.3.4 Etapa de multiplicación de brotes de papa

Los brotes regenerados provenientes de la etapa de establecimiento con 2 cm de altura se utilizaron como fuente de explantes en esta etapa. Estos brotes fueron establecidos en las sales básicas del medio MS (Murashige y Skoog, 1962), adicionado con vitaminas, 30 g L⁻¹ de sacarosa, además suplementados de distintos niveles fitohormonales de 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido 1-naftalenacético (ANA). Se ajustó el pH a 5.7 ± 0.02 y se solidificó con 4.3 g L⁻¹ de Phytigel™. Concluida la transferencia las unidades experimentales fueron establecidas en condiciones controladas de fotoperiodo y temperatura igual que la etapa anterior. Cada tratamiento tenía seis repeticiones que se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar y permanecieron por ocho semanas en estas condiciones. En esta etapa se evaluaron las siguientes variables: número y longitud de brotes por explantes, número y longitud de raíces, número entre-nudos. En Cuadro 6 se presentan los tratamientos evaluados en la etapa de multiplicación. En la figura 14 se observaron los efectos de ANA Y BAP en la etapa de multiplicación *in vitro* de explantes de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna

Cuadro 6. Evaluados en la etapa de multiplicación de brotes de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tratamiento	ANA (mg L ⁻¹)	BAP (mg L ⁻¹)
T1	0.00	0.0
T2	0.2	0.5
T3	0.2	1.0
T4	0.2	1.5



Figura 14. Etapa de multiplicación *in vitro* de explantes de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad Fianna. **A:** Brotes regenerados de papa de la etapa de establecimiento. **B:** Brotes incubados en la etapa de multiplicación.

3.2.3.5 Efecto de la aplicación de los elicitores sobre la organogénesis directa en cultivo de papa.

Los brotes regenerados provenientes de la etapa de multiplicación con 2 cm de altura fueron utilizados como fuente de explantes en esta etapa. Se utilizaron las sales básicas del medio MS más vitaminas, se adicionó con 100 mg L⁻¹ de myoinositol, 30 g L⁻¹ de sacarosa y 4.3 g L⁻¹ de Phytigel™. Se ajustó el pH a 5.8 ± 0.02 usando NaOH o HCl 1N, continuando a fundir el Phytigel™ con la ayuda de un microondas durante siete min. Finalmente se esterilizaron los medios en una autoclave a 121 °C a 15 libras de presión durante 15 min. Posteriormente se llevaron estos medios a la campana de flujo laminar para añadir las tres concentraciones de cada elicitador (Activane®, Stemicol® y Micobiol®) (Cuadro 7). Se colocaron cuatro explantes por cada unidad experimental, con un total de seis repeticiones por tratamiento. Los frascos fueron incubados en luz de fotoperiodo de 16 h luz (54 μmol m⁻² s⁻¹) y 8 h de oscuridad y temperatura 24 ± 2 °C durante tres meses. Se utilizó un arreglo factorial (3 × 3), tres niveles de elicitores y tres dosis diferentes. Los tratamientos se establecieron en un diseño completamente al azar con seis repeticiones por tratamientos. Se evaluaron las siguientes variables: número y longitud de brotes por explante, número y longitud de raíces. En la figura 15 se observaron los efectos de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis directa.

Cuadro 7. Tratamientos evaluados en la organogénesis directa *in vitro* en papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tratamiento	Elicitores	Dosis
T1	Control	0.0
T2	Activane	(0.2, 0.4, 0.6) g L ⁻¹
T3	Micobiol	(0.3, 0.5, 0.7) mL L ⁻¹
T4	Stemicol	(0.6, 0.8, 1.0) g L ⁻¹



Figura 15. Efecto de los elicitores sobre el crecimiento en la organogénesis directa.

A: Brotes regenerados. **B:** Respuesta de brotes con el uso de elicitores

3.2.3.6 Efecto de los elicitores sobre la organogénesis indirecta en cultivo de papa.

Los brotes regenerados provenientes de la etapa de multiplicación con 2 cm de altura fueron utilizados como fuente de explantes en esta etapa. Se utilizó el medio de cultivo compuesto por las sales básicas de medio MS más vitaminas, con 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 30 g L⁻¹ de sacarosa, y se adicionó con 3.0 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 0.5 mg L⁻¹ de kinetina y 4.3 g L⁻¹ de Phytigel™. Se ajustó el pH a 5.8 ± 0.02 usando NaOH o HCl 1N; continuando a fundir el Phytigel™ con la ayuda de un microondas durante siete min. Posteriormente se llevaron estos medios a la campana de flujo laminar para añadir las tres concentraciones de cada elicitore (Activane®, Stemeicol® y Micobiol®) (Cuadro 8). Se colocaron cuatro explantes por cada unidad experimental, con un total de seis repeticiones por tratamiento. Los frascos fueron incubados en completa oscuridad durante tres meses. Se utilizó un arreglo factorial (3 × 3) tres niveles de elicitores y tres dosis diferentes. Los tratamientos se establecieron en un diseño completamente al azar con seis repeticiones por tratamiento. Se evaluaron las siguientes variables: número y longitud de brotes por explante, número y longitud de raíces, formación de callo y presencia de regeneración. En la figura 16 se observaron los efectos de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis indirecta.

Cuadro 8. Tratamientos evaluados en la organogénesis indirecta *in vitro* en papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tratamiento	Elictores	2,4-D mg L ⁻¹	Kinetina mg L ⁻¹	Dosis
T1	Control	0.0	0.0	0.0
T2	Activane	3.0	0.5	(0.2, 0.4, 0.6) g L ⁻¹
T3	Micobiol	3.0	0.5	(0.3, 0.5, 0.7) mL L ⁻¹
T4	Stemicol	3.0	0.5	(0.6, 0.8, 1.0) g L ⁻¹

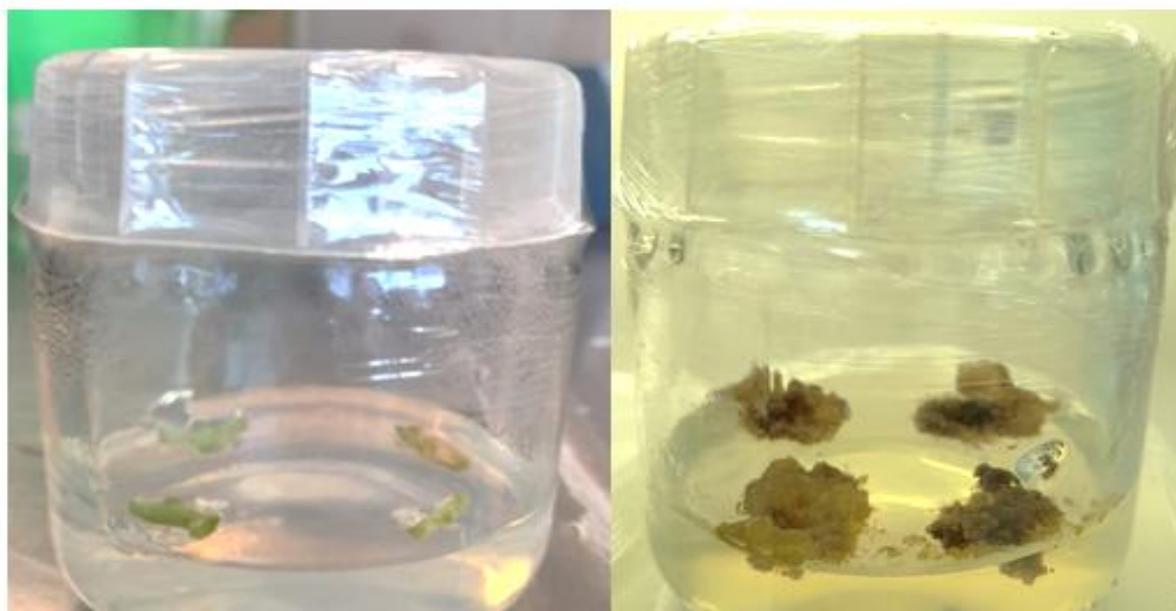


Figura 16. Efecto de los elictores sobre callogénesis. **A:** Brotes regenerados

B: Explantes establecidos en las sales básicas del medio MS.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Experimento uno

Esta parte del trabajo de investigación fue realizado en la Unidad Académica Marín de la Facultad de Agronomía, la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) durante el periodo de abril de 2020 a enero de 2021, con la finalidad de evaluar el efecto de los elicitores sobre el crecimiento, desarrollo y producción del cultivo de la papa (Fianna). A continuación se describen los resultados obtenidos por el efecto de los elicitores:

4.1.1 Número de tallos por planta

El número de tallo no demostró efecto de los elicitores, siendo el tratamiento Control (T1) con el resultado más alto para este variable. Por este motivo el análisis estadístico no mostró diferencia significativa (Sig.=0.05) entre los tratamientos durante los 65 días después de la siembra. Siendo el tratamiento T1 con mejores promedios de tallo seguido por los tratamientos T2, T4 y T3 (Figura.17)

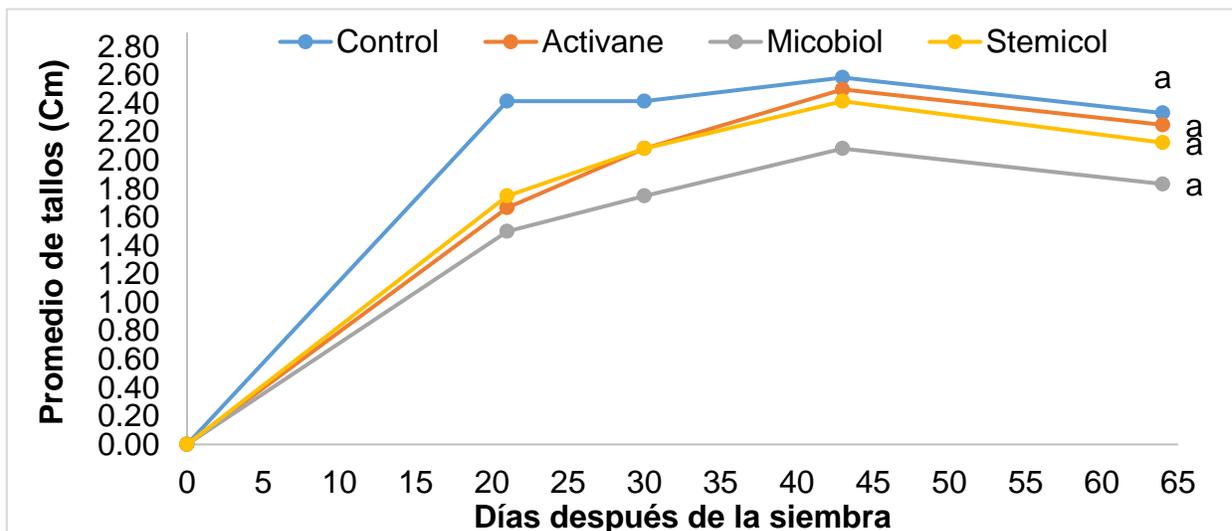


Figura 17. Comparación de número de tallos durante las cuatro aplicaciones de elicitores en el desarrollo del cultivo.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Contreras-Liza *et al.*, (2017), quienes observaron diferencias significativas entre las dosis y su interacción con los cultivares para el número de tallos por planta a los 30 días. Asimismo, en el número de tallos por planta, los tratamientos con ácido salicílico (AS) entre 0.2 a 0.4 mM tuvieron un efecto significativo en papa. Mientras que Jerez-Mompié *et al.*, (2017) mencionan que el número de tallos promedio por planta resultó ligeramente superior en dos plantaciones presentando diferencias significativas entre tratamientos.

4.1.2 Longitud de tallos por planta

El comportamiento de la longitud de tallos mostró efecto de los elicitores entre tratamientos, siendo el tratamiento Activane (T2), con el resultado más alto para esta variable, seguido por los tratamientos T1 y T4 (Figura.18).

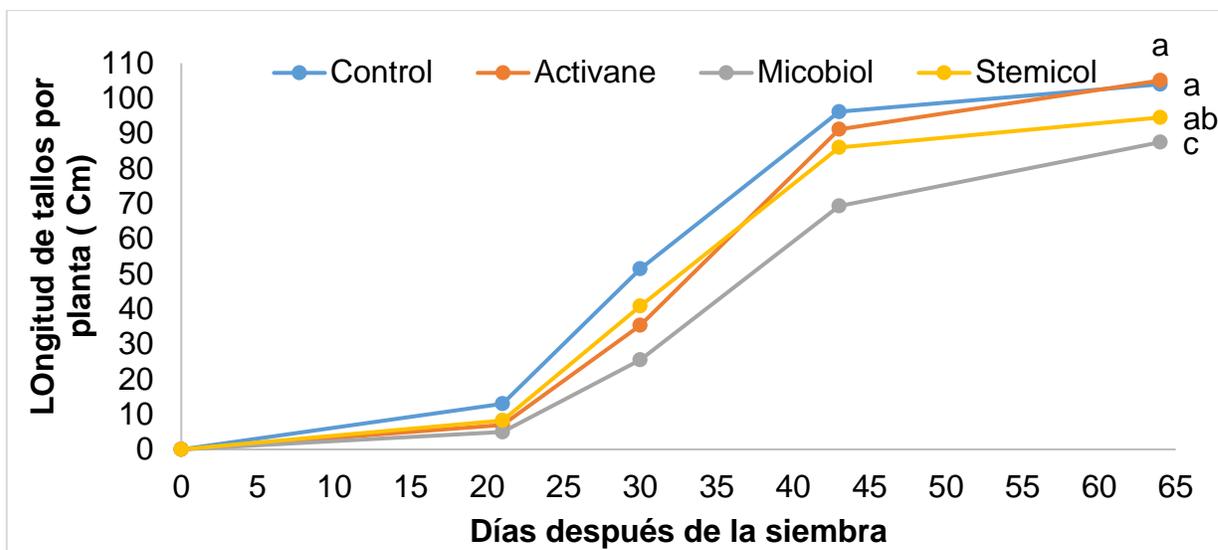


Figura 18. Comparación de medias de longitud de tallos durante las cuatro aplicaciones de elicitors de estudio.

De acuerdo con los resultados obtenidos por Larqué-Saavedra *et al.*, (2010) se encontró que el ácido salicílico (AS) tiene un efecto positivo sobre el incremento en longitud de los tallos de papa obteniendo un incremento del 43% con la concentración de 1.0 mM y 18% con 0.01 mM. Además, García *et al.*, (2018), mostraron que la aplicación de los elicitors de origen natural en las plantas inoculadas por FOL promovió el incremento de la altura de la planta, observándose un aumento para las plantas tratadas con elicitors en comparación con el testigo. También Jerez-Mompié *et al.*, (2017), reportó que la altura de las plantas de papa tuvo un incremento del crecimiento en aquellos tratamientos donde se aplicó QuitoMax en dos momentos del ciclo del cultivo.

4.1.3 Número de hojas por planta

El número de hojas en este trabajo demostró efecto de los elicitores, siendo el tratamiento (T2) con el resultado más alto para este variable. Por esta razón el análisis estadístico, mostró diferencia significativa (Sig.=0.05) entre los tratamientos durante los 65 días después de la siembra (Figura.19).

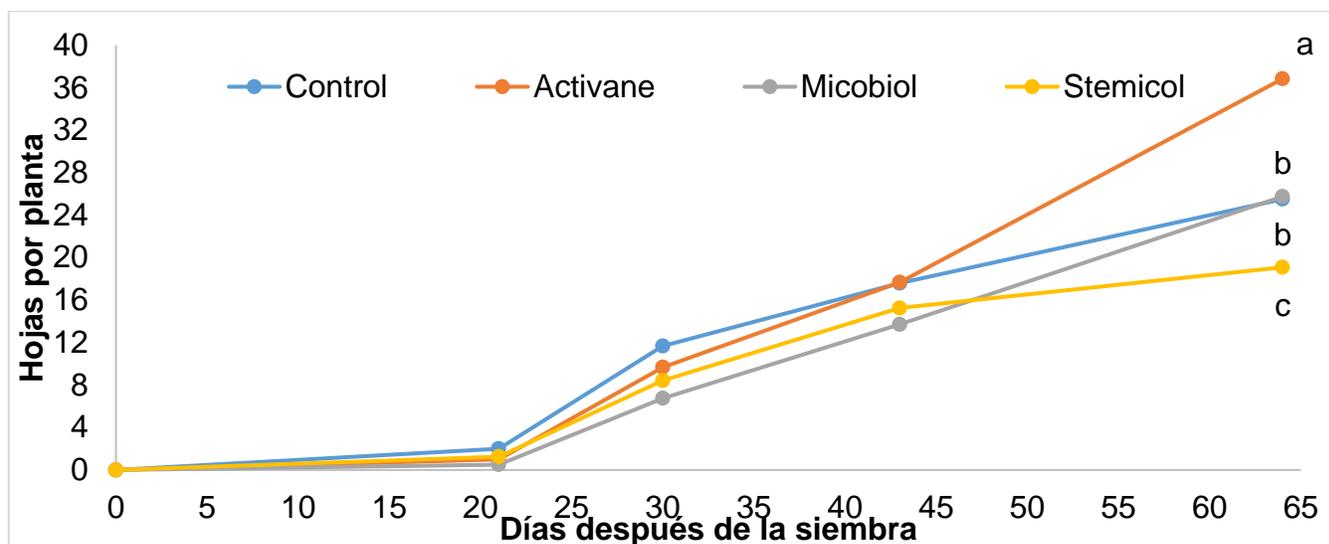


Figura 19. Comparación de medias del número de hojas durante las cuatro aplicaciones de estudio.

De acuerdo con los resultados obtenido por Jerez Mompié *et al.*, (2017) demostraron que la superficie foliar resultó superior en las plantas que fueron asperjadas con bioproductos, sin diferencias significativas entre tratamientos, aunque sí con respecto al control. Mientras que, Vallad y Goodman (2004) utilizaron diferentes dosis de AS en cultivo de papa, dónde sus resultados no afectan significativamente el número de hojas por planta.

4.1.4 Rendimiento del cultivo

4.1.4.1 Tubérculos cosechados por planta

El comportamiento del número de tubérculos cosechados en esta investigación mostró diferencias significativas en la evaluación de los elicitores a los 65 días, donde observó que el tratamiento cuarto mostró mayor cantidad de tubérculos durante el ciclo del cultivo con respecto al control (Figura.20).

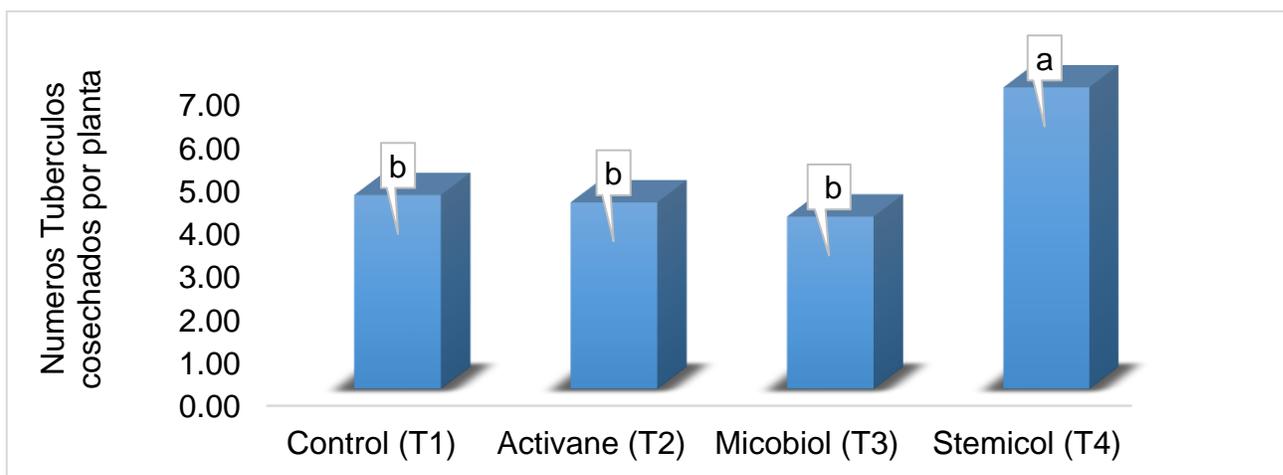


Figura 20. Comparación de media del número de tubérculos durante las cuatro aplicaciones del estudio.

Los resultados obtenidos por Jerez-Mompíe *et al.*, (2017) reportaron que el número de tubérculos por planta aumentó cuando se aplicó el bioestimulante Pectimorf® en diferentes condiciones ambientales y se incrementó el número de tubérculos con respecto al control.

4.1.4.2 Producción de tubérculos (g-planta)

El comportamiento de la producción mostró diferencias significativas entre tratamientos, los valores mayores estuvieron entre el tratamiento cuatro y dos (T4 y T2), el resultado que es lógico, si se tiene en cuenta que las aplicaciones se realizaron luego de los 21 días después de la plantación, por lo que el efecto de los elicitores son positivos, como lo demuestran los resultados (Figura.21).

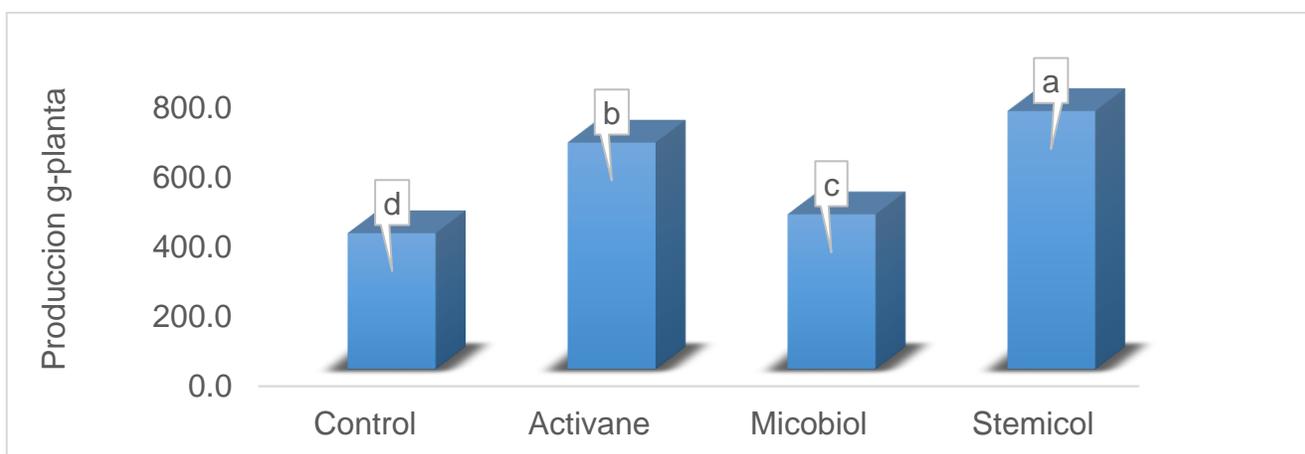


Figura 21. Prueba de comparación de media de la producción durante el ciclo del cultivo.

Este resultado no coincide a los obtenidos por Jerez-Mompié *et al.*, (2017), quienes mostraron que el rendimiento promedio dos años, fue mayor con la aplicación de dos Quitosanas® en el cultivo de papa en la preparación uno (Q1 de 66.4 Kd), la cual no mostró diferencias significativas el primer año con el preparado dos (Q2 de 124 Kd), pero sí en el segundo año.

4.1.4.3 Peso promedio por tubérculo (g)

El peso promedio por tubérculo en esta investigación demostró el efecto de los elicitores, siendo el tratamiento Activane (T2) el que tuvo el resultado más alto para esta variable. Por este motivo el análisis estadístico mostró diferencia significativa (Sig.=0.05) entre los tratamientos durante los 65 días después de la siembra (Figura. 22)

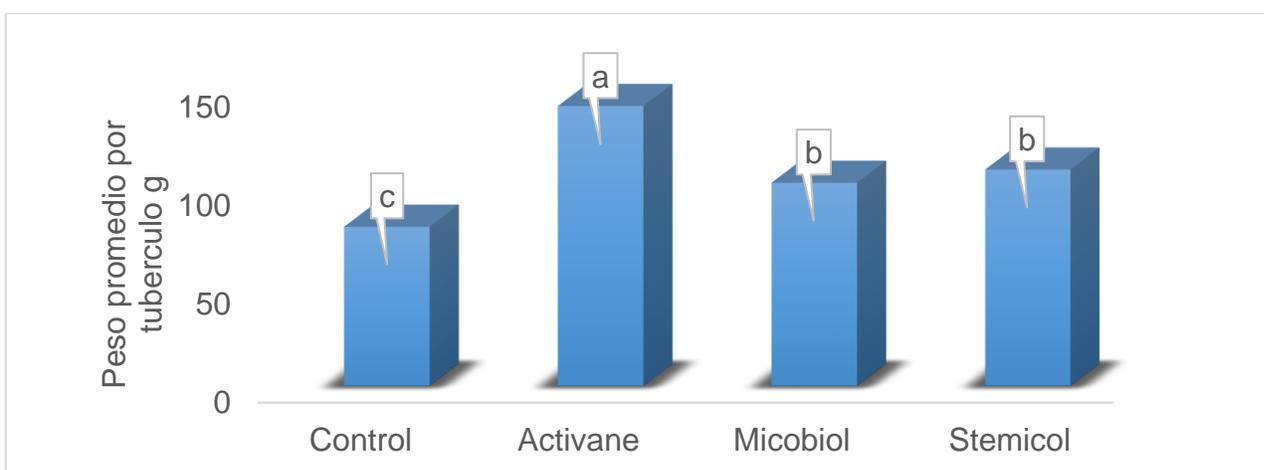


Figura 22. Peso de tubérculo obtenido durante el ciclo del cultivo y la prueba entre tratamientos.

Los resultados obtenidos por Vallad y Goodman, (2004) en diferentes dosis de AS en cultivo de papa, mencionan que no afectaron significativamente los pesos de tubérculos, por lo que pueden considerarse positivas para la aplicación en campo. Se ha considerado que la planta utiliza parte de la energía en la resistencia sistémica y que podrían existir problemas de merma de producción por una sobredosis de AS.

4.1.4.4 Actividad enzimática de polifenol-oxidasa

En la evaluación de los elicitores a los 65 días, el análisis de varianza mostró que no hubo diferencias significativas ($p=0.233$) entre los tratamientos para DPPH. Sin embargo, los muestreos tuvieron una diferencia significativa ($p=0.000$). La comparación de medias de los muestreos indicó que el tratamiento 4 tuvo mayor cantidad de polifenoles y el tratamiento 1 resultó con la menor concentración de polifenoles. La interacción entre los tratamientos y los muestreos no fue significativa ($p=0.804$), por lo que la diferencia entre los muestreos fue similar en todos los tratamientos (Figura.23).

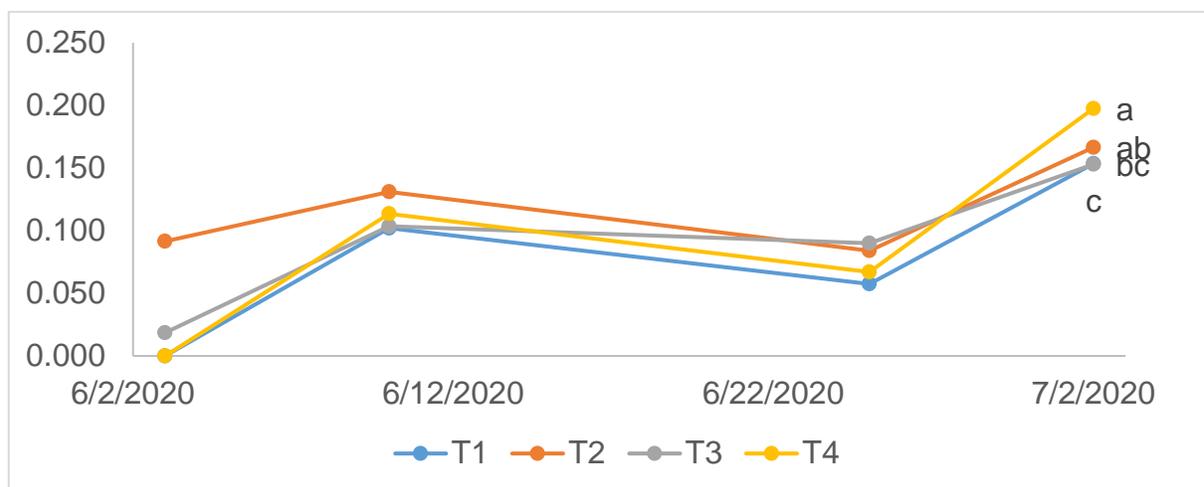


Figura 23. Comparación de medias de la actividad enzimática de polifenol-oxidasa en hojas de papa (*S. tuberosum* L.) de variedad Fianna después de 90 días.

En la actividad enzimática de la polifenol-oxidasa, existen diferencias significativas entre los tratamientos siendo el tratamiento con Stemicol que mostró mayor actividad enzimática en diferentes aplicaciones que los demás tratamientos, seguido del tratamiento Activane casi similar al tratamiento con Micobiol, mientras que el control obtuvo menos actividad enzimática.

Rodríguez-Guzmán *et al.*, (2019), mostraron que el efecto del quitosano en la actividad de la polifenoloxidasa, incrementó en comparación con el control negativo (asperjado con agua). Soliva *et al.*, (2000) demostraron que la PFO cataliza la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas (compuestos antimicrobianos), que son tóxicas para los patógenos. Además, la PFO está involucrada en la lignificación de las células vegetales favoreciendo la defensa contra los fitopatógenos (Chen *et al.*, 2014).

4.1.4.5 Actividad antioxidante de DPPH

El análisis de varianza a los 65 días, mostró diferencias significativas ($p=0.489$), entre los tratamientos para DPPH. Sin embargo, los muestreos tuvieron una diferencia significativa ($p=0.000$). La comparación de medias de los muestreos indicó que el muestreo 2 resultó con menor cantidad de DPPH. La evaluación de los elicitores a los 65 días, que corresponde a la aplicación de los elicitores, mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, encontrándose valores menores de la actividad enzimática en el muestreo con respecto a los demás. La interacción entre los tratamientos y los muestreos no fue significativa ($p=0.483$), por lo que la diferencia entre los muestreos fue similar en todos los tratamientos. (Figura.24).

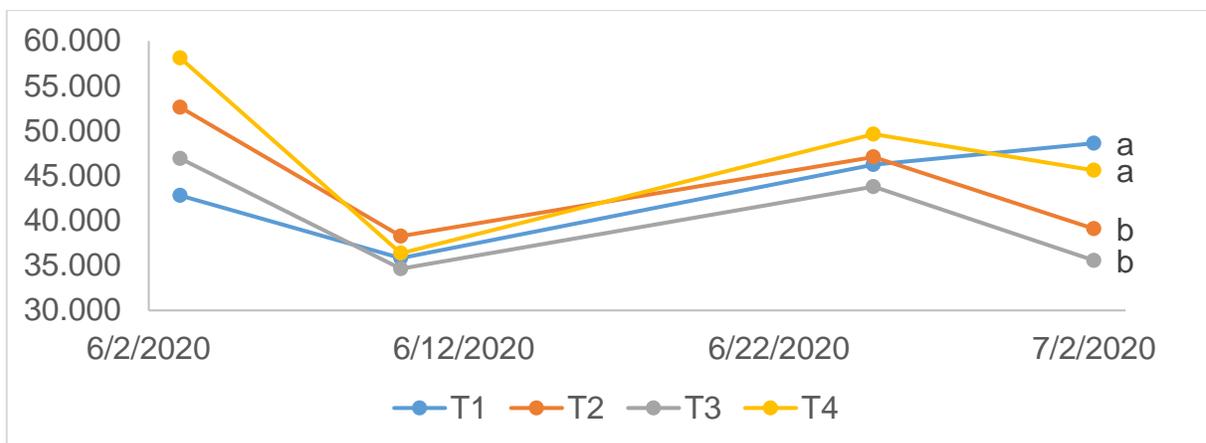


Figura 24. Comparación de medias de la actividad enzimática de DPPH en hojas de papa (*S. tuberosum* L.) de variedad Fianna después de 90 días.

Mejía-Lotero *et al.*, (2018) evaluaron la actividad antioxidante y antimicrobiana en *Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus* donde encontró un alto porcentaje de actividad antioxidante en todas las partes de las plantas (hojas, tallo y tubérculo).

4.2 Porcentaje de Asepsia.

En el cuadro 9 los resultados de la asepsia fueron evaluados por semana, logrando tener porcentajes semanales superiores al 90% en todos los muestreos evaluados, con un promedio general de 94.77 %. El análisis estadístico bajo las condiciones de estudio no mostró diferencias significativas con ($P \leq 0.05$) para esta variable. La respuesta obtenida en nuestro experimento fue superior a lo reportado por Peña (2012) quien reporta porcentajes del 75% de asepsia en sus explantes en la misma variedad Fianna. Mientras que Araque-Barrera *et al.*, (2018) en las variedades de papa Diacol Capiro (DC) y Parda Pastusa (PP) logro obtener el 100 % de explantes asépticos.

Cuadro 9. Porcentaje de asepsia en el establecimiento de los explantes *in vitro* durante los nueve Semanas.

Semana	Asepsia		Total	Porcentaje de Asepsia
	NO	SI		%
1.0	0	70	70	100
2.0	6	64	70	91.42857
3.0	6	62	68	91.17647
4.0	4	55	59	93.22034
5.0	3	53	56	94.64286
6.0	4	51	55	92.72727
7.0	2	49	51	96.07843
8.0	2	47	49	95.91837
9.0	1	44	45	97.77778
				94.77

4.2.1 Número de explantes con brotes

En la Figura 25 se presenta el incremento del número de brotes respecto a las semanas. La línea de regresión entre las semanas y el número de brotes está representada por la ecuación: $Y_i = 0.028 + 0.309X_i$ ($R^2 = 0.979$) lo que indica que el número de brotes se incrementó en 0.309 por semana. Esta respuesta es similar a lo obtenido por Araque-Barrera *et al.*, (2018) quienes mostraron que, en los primeros explantes crecieron uniforme, constituyendo explantes óptimos para el establecimiento

de cadenas de proliferación. En tanto que, en los explantes secundarios, se redujeron a medida que estos se desarrollaban en segmentos cercanos al ápice.

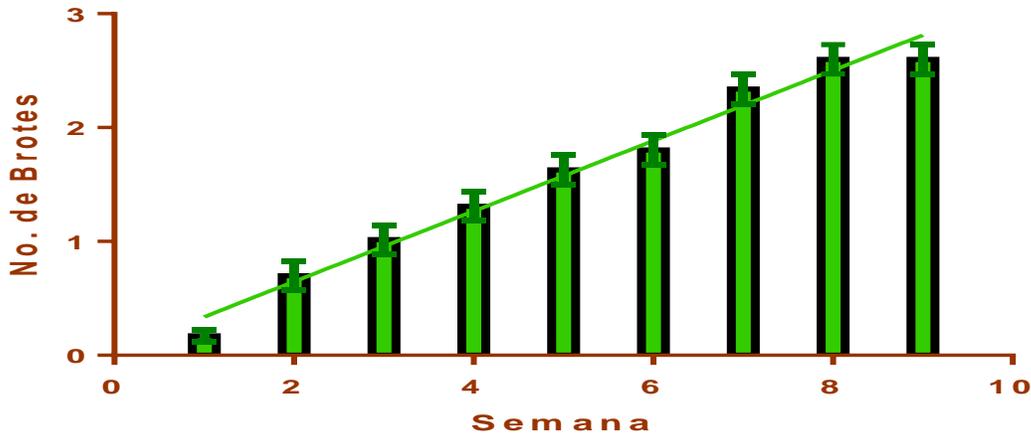


Figura 25. Relación entre las semanas y el número de brotes en papa bajo condiciones de cultivo de tejidos.

4.2.2 Longitud de brotes (Cm)

En la Figura 26 se presenta el incremento de la longitud de brotes con respecto a las semanas. La línea de regresión entre las semanas y la longitud de brotes está representada por la ecuación: $Y_i = 0.462 + 0.405X_i$ ($R^2 = 0.953$) lo que indica que la longitud de brotes se incrementó en 0.405 por semana. Como se muestra en la gráfica de dispersión de la variable se observa una tendencia lineal, por lo que se ajustaron los datos utilizando un modelo de regresión lineal simple, en donde se obtuvo un $R^2 = 0.953$, lo que indica que el 95% de la variabilidad de la longitud de brotes se debe al incremento en el tiempo. Los resultados obtenidos son diferentes a los resultados obtenidos por Mejía-Muñoz, *et al.*, (2006), quienes mostraron que en el caso de la

longitud del brote se detectaron diferencias estadísticas en la última semana con respecto a los otros tratamientos. Asimismo, los resultados obtenidos por Páez de Cásares *et al.*, (2002), mencionan que la longitud de brotes presentó un menor desarrollo a través del tiempo.

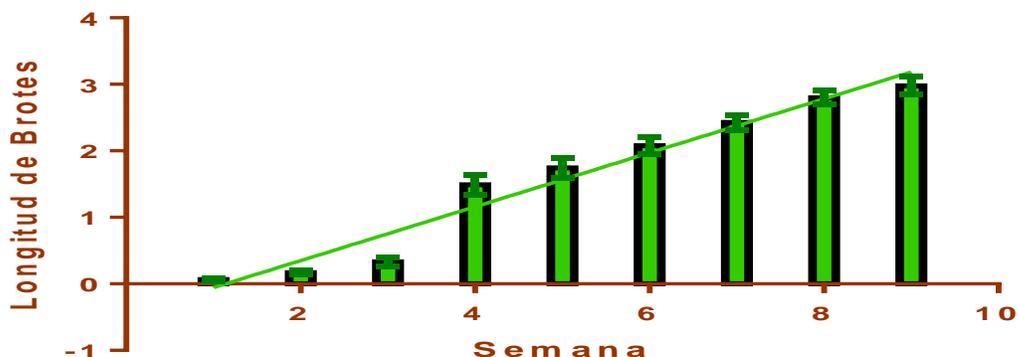


Figura 26. Relación entre las semanas y la longitud de brotes en papa bajo condiciones de cultivo de tejidos.

4.2.3 Número de raíces en brotes regenerados *in vitro*

En la Figura 27 se presenta el incremento del número de raíces con respecto a las semanas. La línea de regresión entre las semanas y el número raíces está representada por la ecuación: $Y_i = 0.037 + 0.204X_i$ ($R^2 = 0.985$) lo que indica que el número raíces se incrementó en 0.204 por semana. La evaluación del número de raíces en los explantes se inició después de tres semanas que aparecieron los primeros primordios de raíces en los explantes establecidos *in vitro*. En general, a medida que pasaba el tiempo el número de explantes con raíz se incrementó. Esta respuesta es diferente a los resultados obtenidos por Valderrama-Alfaro *et al.*, (2011),

quienes mencionan que las raíces emergieron en sus brotes aproximadamente después de 30 días. Mientras que Páez de Cásares y González, (2002) mencionan que el número de raíces formadas, mostraron una misma tendencia durante su desarrollo.

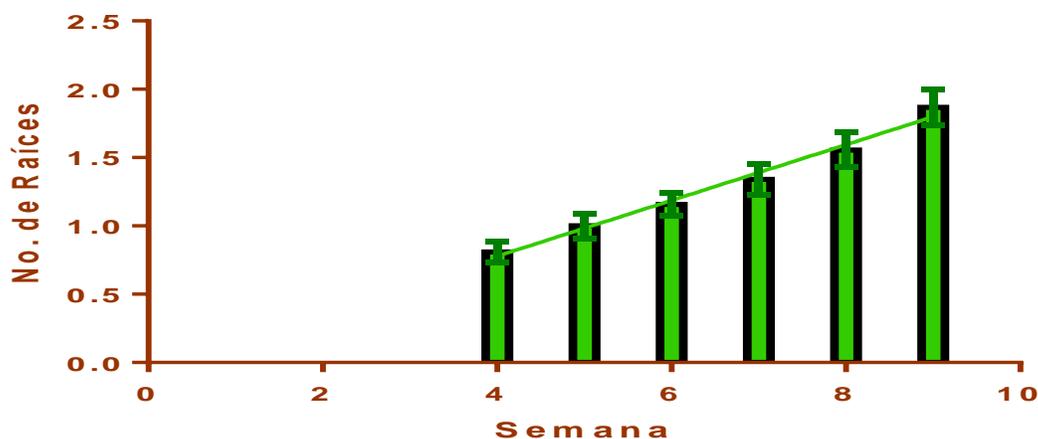


Figura 27. Número de raíces en los explantes durante el desarrollo del cultivo después de nueve semanas.

4.2.4 Longitud de raíces en brotes regenerados *in vitro*. (Cm)

En la Figura 28 se presenta el incremento de la longitud de brotes con respecto a las semanas. La línea de regresión entre las semanas y la longitud de brotes está representada por la ecuación: $Y_i = 0.468 + 0.349X_i$ ($R^2 = 0.960$), lo que indica que la longitud de brotes se incrementó en 0.349 por semana. Esta variable se comporta similar a la anterior, (número de raíces), la gráfica muestra la media de la longitud de raíces por semana, en donde se observa que la longitud de raíces está en función del tiempo. La gráfica de dispersión tuvo una tendencia lineal, por lo que se ajustaron los

datos utilizando un modelo de regresión lineal simple, en donde se obtuvo un $R^2 = 0.960$, lo que indica que el 96% de la variabilidad de la longitud de raíces se debió al incremento en el tiempo. Estos resultados los podemos comparar con el trabajo de Correia *et al.*, (2011), donde se obtuvo una mayor longitud de raíces por explante en un menor periodo de tiempo. Mientras que los resultados obtenidos por Calaña-Janeiro *et al.*, (2019) utilizando las sales basales de Murashige y Skoog (MS), mostraron mejores resultados en cuanto a la longitud de las raíces con promedios entre 4.08 y 3.94 cm, en las plántulas *in vitro*.

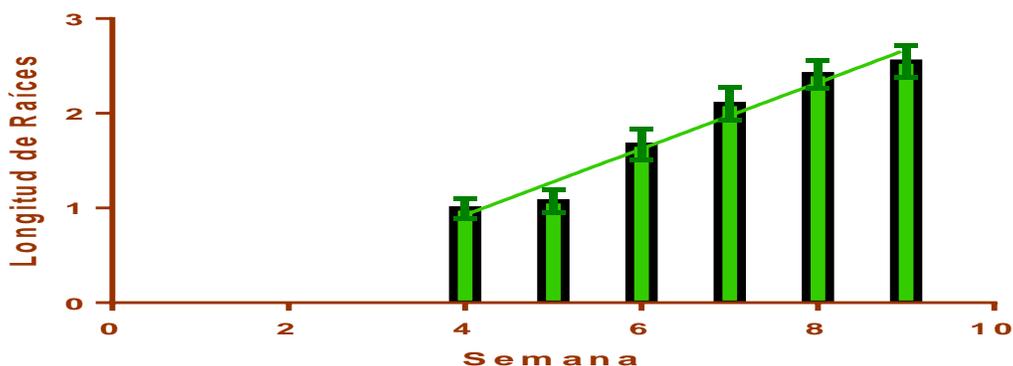


Figura 28. Longitud de raíces en brotes regenerados durante su desarrollo *in vitro* de nueve semanas.

4.2.5 Multiplicación de los explantes *in vitro*.

El efecto de las hormonas BAP y ANA sobre las variables evaluadas fueron significativos entre los tratamientos. El tratamiento con mejor efecto fue el T2 de 0.2 mg L⁻¹ de ANA y 0.5 0.2 mg L⁻¹ BAP, observándose un mejor crecimiento para el número y longitud de brotes y número de raíces (Cuadro 10). Continuando con el

tratamiento T3 de 0.2 mg L⁻¹ de ANA y 1.5 mg L⁻¹ de BAP durante el periodo de evaluación. Estos resultados no coincidieron con lo obtenidos por Danci, (2007) y Rai *et al.*, (2012), donde no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con el medio de cultivo MS adicionado con BAP y ANA en los explantes de papa. Por otro parte, Pineda-Lázaro *et al.*, (2021), observaron que los tratamientos con BAP y ANA en medios MS no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para la variable de longitud de brotes y número de entrenudos, pero si fue significativo para el crecimiento de la planta, la formación de nudos, brotes y raíces en papa. En la Figura 29 se observó el efecto de BAP/ANA en la multiplicación *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L)

Cuadro 10. Efecto de diferentes concentraciones de BAP y ANA en la multiplicación de brotes *in vitro* de la papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Concentración de los elicitores	Número de brotes	Long. de brotes (cm)	Número de raíces	Long. de raíces (cm)	Número entre nudos
T1: Testigo 0.0	5.00 b	4.45 b	5.10 b	4.20 b	6.58 a
T2: 0.2 mg L ⁻¹ de ANA y 0.5 mg L ⁻¹ de BAP	6.95 a	6.98 a	6.10 a	5.21 a	5.48 ab
T3: 0.2 mg L ⁻¹ de ANA y 1.0 mg L ⁻¹ de BAP	6.16 a	6.90 a	6.10 a	5.15 a	5.16 ab
T4: 0.2 mg L ⁻¹ de ANA y 1.5 mg L ⁻¹ de BAP	4.86 c	4.73 b	5.20 b	5.31 a	4.58 c

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).



Figura 29. Efecto de BAP/ANA en la multiplicación *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L). A. T1. Control, B.T2. (0.2 mg L⁻¹ de ANA y 0.5 mg L⁻¹ de BAP), C.T3. (0.2 mg L⁻¹ de ANA y 1.0 mg L⁻¹ de BAP).

4.2.6 Efecto de la aplicación de los elicitores sobre la organogénesis directa *in vitro* de la papa.

Se presentó diferencia significativa entre los tratamientos para las variables estudiadas y los mejores valores del número y longitud de brotes se observó en el T4-Stemicol[®] seguido por el T3-Micobiol[®] y T2-Activane[®] (Cuadro 11). La respuesta de los explantes fue mayor en el caso de los tratamientos con los elicitores, mientras que el tratamiento control no registró una respuesta significativa en el caso del número y longitud de brotes y número de raíces. Sin embargo, las concentraciones evaluadas para los elicitores, mostraron un mayor efecto sobre los explantes para ambos tratamientos. Este resultado es diferente a lo obtenidos por Jiménez-Terry *et al.*, (2006), quienes encontraron que el tratamiento con elicitor quitosano con concentraciones superiores a 0.1 g L⁻¹ ocasionaron un efecto negativo sobre las variables número y longitud de

brotos en papa var. Desirée. En la Figura 30 se observó los efectos de los elicitores en la organogénesis directa de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Cuadro 11. Efecto de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis directa *in vitro* de la papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tratamientos y dosis utilizadas	Número de Brotes	Long. de Brotes (cm)	Número de raíces	Long de raíces (cm)
T1: Testigo D = 0.00	3.84 c	3.10 b	1.10 b	2.65 a
T2: Activane® (g L ⁻¹)				
D ₁ = 0.20	4.77 bc	3.83 a	1.62 b	0.86 bc
D ₂ = 0.40	6.61 a	4.57 a	0.42 c	1.21 b
D ₃ = 0.60	4.61 bc	3.20 b	0.63 c	0.08 c
T3: Micobiol® (mL L ⁻¹)				
D ₁ = 0.30	5.14 b	3.78 a	2.28 a	1.42 b
D ₂ = 0.50	6.79 a	3.45 ab	0.50 c	0.38 c
D ₃ = 0.70	4.72 bc	2.94 c	0.07 c	0.08 c
T4: Stemicol® (g L ⁻¹)				
D ₁ = 0.60	4.27 bc	3.36 ab	1.37 b	1.07 b
D ₂ = 0.80	6.95 a	4.28 a	2.83 a	2.49 a
D ₃ = 0.100	5.47 b	3.75 a	0.19 c	0.32 c

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey

sig. ($p \leq 0.05$).

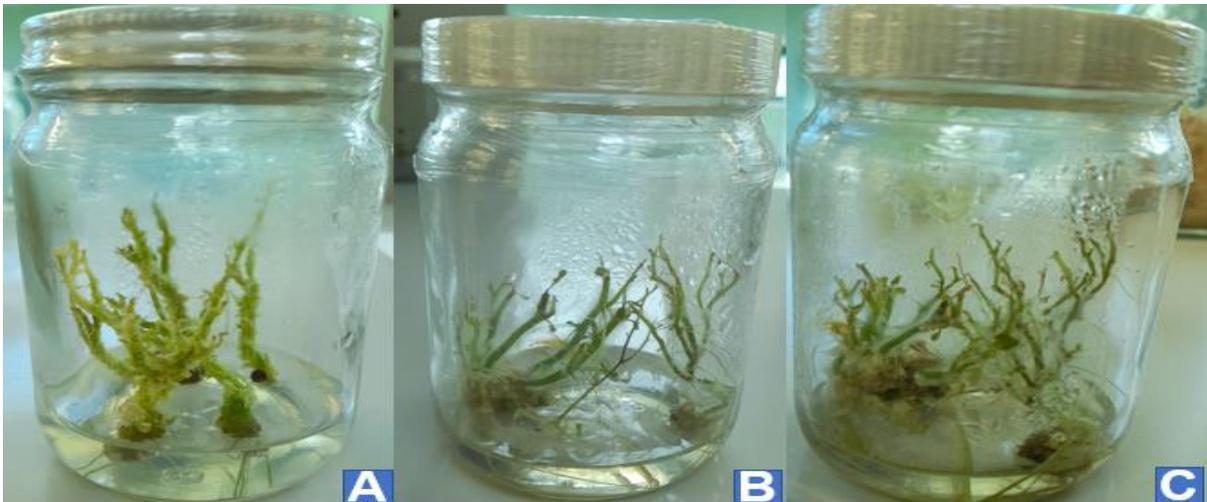


Figura 30. Efecto de los elicitores en la organogénesis directa de papa (*Solanum tuberosum* L.). A. T2: Activane, B. T3: Micobiol, C. T4: Stemicol.

4.2.7 Efecto de los elicitores sobre la organogénesis indirecta en el cultivo de papa.

Durante el periodo de evaluación, se encontró una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos. Donde se observó que los elicitores obtuvieron un efecto positivo entre las variables de los tratamientos evaluados. La mayoría de los callos cambiaron color entre 6 y 7 días y se observó que en el tratamiento T2-Activane[®] se obtuvo un cambio de coloración en 25 días, por otro lado, el T4-Stemicol[®] obtuvo mejor diámetro y porcentaje de inducción de callos (Cuadro 12). Los resultados son similares a los obtenidos por Hernández *et al.*, (1999) al evaluar el efecto del elicitor Rizobac (1.5 mg L^{-1}) sobre el cultivo de la papa *in vitro*, encontrando que el elicitor presentó un efecto positivo sobre los tratamientos evaluados, teniendo una respuesta favorable en cuanto al aumento de peso de los callos. También Hidrobo-Luna *et al.*, (2002), al aplicar el elicitor Rizobac para la inducción de callos encontró mayores valores de

peso, inducción y viabilidad en callos de papa *in vitro*. En la Figura 31 se observó el Efecto de los elicitores en la organogénesis indirecta de papa (*Solanum tuberosum* L.).

Cuadro 12. Comportamiento de diferentes dosis de elicitores en la organogénesis indirecta de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Fianna.

Tratamientos y dosis utilizadas	Formación de callo	Peso de callo (g)	Diámetro de callo (cm)	Inducción de callo (%)
T1: Testigo D = 0.0	6 días	0.43 d	1.77 d	80 b
T2: Activane® (g L ⁻¹)				
D ₁ = 0.2	6 días	2.64 b	2.05 d	100 a
D ₂ = 0.4	7 días	1.65 c	4.76 b	80 b
D ₃ = 0.6	7 días	1.32 c	3.0 c	100 a
T3: Micobiol® (mL L ⁻¹)				
D ₁ = 0.3	7 días	2.74 b	6.90 a	100 a
D ₂ = 0.5	días	3.23 ab	7.30 a	100 a
D ₃ = 0.7	8 días	1.23 c	7.30 a	100 a
T4: Stemicol® (g L ⁻¹)				
D ₁ = 0.6	6 días	4.87 a	7.23 a	80 b
D ₂ = 0.8	6 días	4.92 a	7.77 a	100 a
D ₃ = 1.0	6 días	5.35 a	6.27 a	100 a

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey

sig. ($p \leq 0.05$).



Figura 31. Efecto de los elicitores en la organogénesis indirecta de papa (*Solanum tuberosum* L.). A. T2: Activane, B. T3: Micobiol, C. T4: Stemicol.

5 CONCLUSIONES

Etapa uno: Experimento en Campo.

1. La aplicación de elicitores tuvo un efecto positivo sobre el número de tallos por planta, longitud de tallos, número de hojas por planta, producción y las actividades enzimáticas. Los elicitores aplicados en hojas de plantas de papa estimularon el rendimiento en comparación con las plantas control, a la vez que permitieron que se obtuviera un mayor número de tubérculos. De igual manera, las variables de crecimiento resultaron favorecidas con las aplicaciones de estos productos.

Experimento dos: Cultivo *in vitro*

1. La técnica de desinfestación utilizada para el establecimiento aséptico de los explantes de la variedad en estudio fue efectiva, así como el medio de cultivo utilizado durante el desarrollo de los explantes en esta etapa.
2. Los mejores valores de multiplicación de los brotes de papa, se logró en los tratamientos con 0.5 y 1.0 mg L⁻¹ de BAP. Además, el presente estudio reporta la efectividad de los elicitores Activane[®], Micobiol[®] y Stemicol[®] sobre la organogénesis *in vitro* de la papa. Por lo tanto, la aplicación de elicitores favoreció la organogénesis en papa variedad Fianna. Siendo el elicitor Stemicol[®] el que se comportó como el más efectivo para inducir la organogénesis en los explantes, así como en el número y longitud de brotes, número y longitud de raíces y en la coloración, peso, diámetro, inducción y asepsia de callos.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C.C. (2012). La micropropagación en especies forestales. Ciencia actual 1(2). ISSN 2248-468x.
- Adobkar, I.M., Ahmed, A., Elshahed, M. (2012). Plant tissue culture media. Annarita Leyva and Laura M.R. Rinaldi (ed) In: Recent advances in plant *in vitro* culture. ISBN 978-953-51-0787-3.
- Ahloowalia, B.S. (1994). Production and performance of potato mini-tubers. Euphytica 75:163-72.
- Anon. (2017). Gb potatoes, ahbd potatoes. En línea: <https://potatoes.ahdb.org.uk/sites/default/files/GB%20Potatoes%202016-2017.pdf>.
- Araque-Barrera, E.J., Bohórquez Quintero, M.A., Pacheco Díaz, J.E., Correa Morac, L.Y., Urquijo Ruiz, J.S., Castañeda Garzón, S. L. e Pacheco Maldonado, J.C. (2018). Propagation and *in vitro* tuberization of two varieties of potato. Ciencia en Desarrollo, 9(1). ISSN 0121 – 7488.
- Baenas N, García C, Moreno DA, (2014). Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. Molecules (Basel, Switzerland), 19(9): 13541–13563.
- Bazán, J. I. M. (2019). Las fitovacunas y su efecto vigorizante y protector en los cultivos. V Congreso Nacional de Fertirrigación y Nutrición en Hortalizas. Lida de México, s.a. de C.V. Pp 1 – 83.

- Bertsch, F. (2003). Absorción de nutrimentos por los cultivos. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 307p.
- Borja-López. (2017). Origen e historia de la papa. En línea. <https://comida.uncomo.com/articulo/origen-e-historia-de-la-patata-o-papa-44052.html>.
- Bradshaw, J., Gebhardt, C., Govers, F., Mackerron, D.K.L., Taylor, M.A. and Ross, H.A. (2007). Potato biology and biotechnology advances and perspectives. 801 p.
- Burrows, M. and Zitter, T. (2005). Virus Problems of Potatoes. USDA-ARS and Department of Plant Pathology Cornell University Ithaca, NY. URL: http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Potato_Virus.htm.
- Bystricka, D., Lenz, O., Mraz, I., Piherova, L., Kmoch, S and Sip, M. (2005). Oligonucleotide-based microarray: A new improvement in microarray detection of plant viruses. Journal of Virological Methods 128: 176–182.
- Calaña-Janeiro, V.M., Izquierdo-Oviedo, H., González-Cepero, M.C., Rodríguez- Llanes, Y., Rodríguez-Hernández, M., Horta-Fernández, D. (2019). Desinfección de semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) cultivar ‘YAMIL’ para su implantación *in vitro*. cultrop 40 (3).
- Cardoza, V. (2005). Tissue culture: the manipulation of plant development. Book Plant biotechnology and genetics. Principles, techniques and applications.
- CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP). (1996). Manual: Principales Enfermedades, Nematodos e Insectos de la Papa. Editorial Stella. Lima, Perú. 43 p.
- Chen, J., Zou, X., Liu, Q., Wang, F., Feng, W., y Wan, N. (2014). Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata* and enhancing

activity of cherry tomato fruit defense mechanisms. *Crop Protection*, 56, 31–36.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.007>.

Cob, J., Ana, S. M., Darcy, R. L., Antonio, D., Pablo, J. A., Luis Y Escobar, B. (2010). Potencial de la organogénesis como estrategia para la masificación *in vitro* de *Persea lingue* en la zona centro-sur de Chile. *Bosque (Valdivia)*, 31(3), 202-208.

Coleman, W.K., Donnelly, D.J., Coleman, S. E. (2001). Potato microtubers as research tools: a review. *American Journal of Potato Research* 78: 47-55.

Contreras-Liza, S.E., Huamán-Tasa, D., Noriega-Cordova, H.W. (2017). Efecto del ácido acetil salicílico sobre el comportamiento agronómico de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Latinoamericana de la Papa* 21(1): 15-24.

Correia, S., Lopes, M. and Canhoto, J. (2011). Somatic embryogenesis induction system for cloning and adult *Cyphomandra beta cea* (Cav.) Sendt. (tamarillo). *Trees* 25:1009–1020.

Cortes, A. J.S., Pérez, M.G., Mora, S.R.M. (2017). Importancia de los cultivos vegetales *In vitro* para establecer bancos de germoplasma y su uso en investigación. *BIOCIENCIAS* (1).

Cortez, R. y Hurtado, G. (2002). Cultivo de la papa. (CENTA) Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, (en línea) Guía técnica: cultivo de la papa.1- 36 p. Disponible en: <http://docplayer.es/5817796-Guia-tecnica-cultivo-de-la-papa.html>

Danci, O. (2007). Studies regarding the elaboration of an optimum micro-propagation protocol for potato cultivar recalcitrant to *in vitro* cultures. *RJAS*, 39(2), 577-580.

Diaz, R.P. (1999). Ensayo de sustratos para plántula de papa (*Solanum tuberosum*L.) proveniente de semilla botánica. Tesis profesional. UV. México. 64 p.

- Dicke, M., Hilker, M. (2003). Induced plant defenses: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic Appl. Ecol.* 4: 3-14.
- Egúsqüiza, B. R. (2000). La papa producción, transformación y comercialización. Trad.W Hurtado de Mendoza. PRISMA- PROYECTO PRODECCE, PROYECTO PAPA ANDINA (CIP-COSUDE). Bolivia - Ecuador - Perú. 192 P.
- Estrada, R., Tovar, P., Dodds, J.H. (1986). Induction of in vitro tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 7: 3 -10.
- FAO. (2006). Farmer Field School for Potato Integrated Pest Management. A Facilitator's Field Guide. Pp 1 -108.
- FAO. (2008). Año internacional de la papa. En línea. <http://www.fao.org/potato2008/es/lapapa/origenes.html>.
- García E, Robledo A, Mendoza B, Solís G, González SM. (2018). Efecto de elicitores de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* Vol. Esp. Núm. 20.
- García, J.J., Zavala-García, F. (2018). Composición florística y diversidad de la regeneración leñosa del matorral en Marín, Nuevo León (91).
- García, Y.G., Sierra Mejía, A.S., Segarra, L.D., Aranda, M.A., Gutiérrez, P.A., Montoya, M.M. (2019). Coinfección natural de virus de arn en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L) En antioquia (COLOMBIA). *Acta biol. Colomb* 24 (3).

- García-Águila, L., Sarría Hernández, Z., Pichardo Moya, T., Pérez Mederos, B. (2001). Cultivo de meristemas para la eliminación del virus de papa en plantas cultivadas *in vitro*. *Biotecnología Vegetal*. 1(2): 117-119.
- García-Brugger A, Lamotte O, Vandelle E, Bourque S, Lecourieux D, Poinssot B, Wendehenne D, Pugin A, (2006). Early Signalling Events Induced by Elicitors of Plant Defenses. *MPMI* 19(7): 711–724.
- Gasull, E., Becerra, D. (2006). Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Información Tecnológica*. 17(6):69-74.
- George, E.F., Debergh, P.C. (2008). Micropropagation: Uses and Methods. *Plant propagation by tissue culture* (3), pp. 29-64.
- González-Castillo, D. A., Chavarría Reyes, MA. (2016). Microtuberización de la variedad de papa (*Solanum tuberosum* L.) banda en biorreactores económicos de inmersión temporal. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 36p.
- González-Franco, A.C., Rodríguez-Rodríguez, M Y Robles-Hernández, L. (2013). Principales virus que afectan al cultivo de papa y metodologías para su identificación y caracterización. (8) 3. *Rev Tecnociencia Chihuahua*.
- Gopal, J., Chamail, A., Sarkar, D. (2004). *In vitro* production of microtubers for conservation of potato germoplasma: effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *In vitro Cell Dev. Plant* 40: 485-490.
- Guillén, S., Martínez-Palacios, A., Martínez, H., Martínez-Ávalos, J. G. (2015). Organogénesis y embriogénesis somática de *Beaucarnea inermis*. *Bot. sci*: 93(2): 221-230.

- Gul, Z., Khan, A and Jameel, K. (2011). Study of Potato leafroll virus (PLRV) of Potato in Pakistan. *Canadian Journal on Scientific and Industrial Research* 2, (1): 24-34.
- Gurel, E., Yücesan, B., Aglic, E., Gurel, S., Verma, S.K., Sokmen, M., Sokmen, A. (2011). Regeneration and cardiotoxic glycoside production in *Digitalis davisiana* Heywood. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 104: 217-225.
- Hahn M. G. (1996). Microbial elicitors and their receptors in plants. *Annu Rev Phytopathol*; 34: 387-412.
- Haro, L. F. (2019). Importancia de la producción de Papa en México. En línea: <https://www.elsoldemexico.com.mx/analisis/importancia-de-la-produccion-de-papa-en-mexico-3433659.html>.
- Hernández, M., Hidrobo, J., Araujo, B. (1999). Proceso de Embriogénesis somática en papa (*Solanum tuberosum*, L.). En Memorias del IX Seminario Científico del INCA, San José de las Lajas, p. 12-13.
- Hidrobo-Luna, J. R., Héctor Ardisana, E., Annia Hernández, A. (2002). Estudio sobre la efectividad del rizobac en el proceso de callogenésis en papa var. Desiree. *Biotecnología vegetal* 2, (4): 195-200.
- Horton, E.D. (1998). Las papas en los países en desarrollo. *Revista Latinoamericana de la Papa*. p 1, 9-17.
- INEGI. (2016). Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México). Anuario estadístico y geográfico de Veracruz de Ignacio de la Llave. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. <http://www.inegi.org.mx>.

- INTAGRI. (2017). La Inducción de Defensa en las Plantas a través de Elicitores. Serie Fitosanidad Núm. 92. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 6 p.
- INTAGRI. (2017). Requerimientos de Clima y Suelo para el Cultivo de la Papa. Serie Hortalizas. (10).3 p.
- Jara, C. F. (2014). Definición de la papa. (en línea). Disponible en: http://chavarria-agro.blogspot.com/2014/07/cultivo-de-papa_2769.html.
- Jerez-Mompíe, E., Martín, R.M. y Guevara, D.M. (2017). Evaluación del crecimiento y composición por tamaño de tubérculos de plant's de papa para semilla, Cultivos Tropicales, 38, (4), pp. 102-110.
- Jiménez Barreto, J.P., Chaparro-Giraldo, A., Blanco. (2009). Evaluación de diferentes combinaciones fitohormonales en la regeneración de *Solanum tuberosum* Var. Pastusa Suprema. 66 (2). Colomb. Biotecnol.
- Jiménez-Terry, F., Kowalski, B., Agramonte, D., Pérez, M. R., Collado, R., Barbón. R. M. L. O. (2006). Evaluación del efecto de la Chitosana en la fase de enraizamiento *in vitro* de papa var. 'Desirée' y en la producción de minitubérculos en casa de cultivo. Biotecnología Vegetal 6, (1). 29 – 33.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A., Mancini-Filho, J. y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment. 25(4):726-732.
- Larios-Mejía, R., Santos Méndez, J., Pineda L., Hernández, S. (2013). Manual de producción de semilla de papa mediante técnicas de reproducción asexual. Tegucigalpa, Honduras

http://www.agronegocioshonduras.org/wpcontent/uploads/2014/06/manual_de_produccion_de_semilla_de_papa.pdf.

Larqué-Saavedra, A., Martín-Mex, R., Nexticapán-Garcéz, A., Vergara-Yoisura, S. y Gutiérrez-Rendón, M. (2010). Efecto del ácido salicílico en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev. Chapingo Ser. Hortic. 16(3):183-187.

Lemus, M.M., Miguel, Á. V., Mendoza, M.A.V. (2020). <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/El-cultivo-de-papa-una-red-con-valor-en-Nuevo-Leon-20200818-0143.html>. mmagana@fira.gob.mx y mvera@fira.gob.mx.

Linares, Y., Alejandro, G. (2001). El mercado mundial de la papa Aldea Mundo, 5, (10), pp. 59-69.

Liza, S. E. C., Córdoba, H. N., Muñoz, A. V., Martínez, L. A., Zúñiga-Dávila, D., Bendezú, S. G. (2019). Uso de inoculantes como estrategia de manejo agronómico sustentable en fincas de papa (*Solanum tuberosum* L) de la región Lima.37, (3). P2 9-37.

Marouani, A. y Harbeoui, Y. (2015). Eficiencia de uso de nitrógeno en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) 65 (2) p 164-169.

Márquez-Vasallo, Y., Salomón-Díaz, J.L., Acosta-Roca, R. (2020). Análisis de la interacción genotipo ambiente en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Cultivos Tropicales, (41), 1.

Martín, R.M. (2015). Evaluación del rendimiento en papa (*Solanum tuberosum*, L.) Cultivos Tropicales, 2015, 36, (1), pp. 93-97.

- Martínez, B., Llave, C., Atencio, Díaz, F. J y López, D. (2001). La transmisión de los potyvirus por pulgones (Revisión). *Investigación agraria. Producción y protección vegetal* 16 (2):149-167.
- Martínez-Reynoso, F.A. (2009). Caracterización morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (*Solanum tuberosum*. L) en la provincia de Chimborazo. Tesis Lic. Riobamba EC. Escuela superior política de Chimborazo.159 p.
- Medina, L. (1991). Organogénesis *in vitro* a partir de Entrenudos y Hojas de nueve Cultivares de papa: Aspectos Hormonales e Histológicos. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú. 179 pp.
- Mejía Méndez, G., Castellanos Suárez, J.A. (2018). Costos de producción y rentabilidad del cultivo de la papa en Zacapoaxtla, Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9, (8).
- Mejía-Lotero, F.M., Salcedo Gil, J.E., Vargas Londoño, S., Serna Jiménez, J.A., Torres Valenzuela, L.S. (2018). Antimicrobial and antioxidant capacity of andean tubers (*Tropaeolum tuberosum* Y *Ullucus tuberosus*). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient:* 21(2):449-456,2018<https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.1083>.
- Mejía-Muñoz, J. M., González-Castillo, S., Mora-Aguilar, R., Rodríguez-Pérez, J.E. (2006). Propagación *in vitro* de papa ratona. *Revista Chapingo serie Horticultura*, 12, (2).
- Montaldo, A. (2010). Cultivo y mejoramiento de la papa. Ed. J Escobo B. San José CR. CIDIA - IICA. 681 p. (serie de libros y materiales educativas/IICA n° 54) Mondino, C.

y Traverso, I. s. a. Panorama varietal de la papa. Sus usos en la cocina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Centro Regional Santa Fe. (en línea). sp. Disponible en: inta.gov.ar/sites/.../script-tmp-inta-variedades-papa_usos-en-la-cocina.pd.

Muñoz, K., Bravo, K., Zapata, P., Londoño, J. (2007). Caracterización preliminar de la enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales. *Scientia et Technica*. 33 (8): 161-164.

Muroshige y Skoog (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-215.

Morales-Puentes, M.E. (2021). Morfología del tubérculo-material nativo “Chaucha botella”.

Naranjo Feliciano, E., Martínez Zubiaur, Y. (2013). Avances en el diagnóstico de la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*): situación actual y perspectivas en Cuba. *Rev. Protección Veg.* (28) 3.

Ormachea, A. M. (2008). Estandarización de protocolo de cultivo in vitro para la regeneración vía organogénesis de camote (*Ipomoea batata* L.) Lamarck, 1973 variedades Tazania y Wagabolige. Lima: s.n.

Pacheco-Seguí, J. y Pérez-Corra, A.C. (2010). Evaluación del manejo del riego de la papa en la Empresa de Cultivos Varios “Valle del Yabú”, Santa Clara, Cuba. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 19, (39).

Páez de Cásares, J., González, P.C.J. (2002). Conservación In Vitro de Dos Variedades de Papa (*Solanum tuberosum* L.) Bajo Condiciones de Crecimiento Mínimo. *Revista Latinoamericana de la Papa*. (2002). 13:125-132.

- Peña, M.C.M. (2012). Efecto de la Composición del Medio de Cultivo y del Fotoperiodo sobre la Producción de Microtubérculos de Papa (*Solanum tuberosum* L.). Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Escuela de Biología. Caracas, Venezuela. Disponible <http://saber.ucv.ve/jspui/bitstream/123456789/8159/1/Tesis%20Mayel%C3%AD%20Carolina%20Moreno.pdf>.
- Pérez, M.L. y Rico, J. E. (2004). Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. Editorial de la Universidad de Guanajuato. 1ª. Edición. Guanajuato, Guanajuato, México. 143 p.
- Pineda Lázaro, A. J., Hernández Amasifuen, A.D., Díaz Pillasca, H. B. (2021). Multiplicación y reducción del crecimiento *in vitro* de papa chaucha (*Solanum tuberosum* L.). Manglar 18(2): 123-128.
- Rai, R., Diengdoh, L., Srivastava, A., Bag, T. (2012). Efficiency of different nodal segments for potato micropropagation, 30(3), 594-597.
- Ranalli, P. F., Bassi, G., Ruaro, G. M. (1994). Microtuber and minituber production and field performance compared with normal tubers. Potato Res. 37: 383-391.
- Rivas, S. (2012). Nuclear dynamics during plant innate immunity. Plant Physiology 158: 87-94.
- Rodríguez, L. E. (2010). Origen y evolución de la papa cultivada. Agronomía Colombiana 28(1), 9-17.
- Rodríguez, M. A. (2018). Cultivo *in vitro* alternativa al cultivo tradicional de plantas medicinales. Universidad Complutense. Tesis de Licenciatura p.2.

- Rodríguez-Guzmán, C.A., González-Estrada, R.R., Bautista-Baños, S., Gutiérrez-Martínez, P. (2019). Efecto del quitosano en el control de *Alternaria* sp. en plantas de jitomate en invernadero. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22: 1-7.
- Rueda-Puente, E. O., Tarazón-Herrera, M. A., García-Hernández, J. L., Murillo-Amador, B., Holguín-Peña, R. J., Flores-Hernández, A., Preciado-Rangel, P., Barrón-Hoyos, J. M., García-Camargo, J. (2006). Presencia del Nematodo Dorado *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Skarbilovich, en Lotes de Papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, (24). 1.
- Sabbagh, S. A., García, S. J. A., Matus, G. J. A., Jiménez, S. L. y Hernández, J. M. (2011). Comportamiento del consumo de papa (*Solanum tuberosum* L.) fresca en México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2(4):559-572.
- Santo, A. E. (2017). Papa, el alimento de México. En línea. <https://mexico.infoagro.com/papa-el-alimento-de-México>.
- Sbaihat L, Takeyama K, Koga T, Takemoto D, Kawakita K, (2015). Induced Resistance in *Solanum lycopersicum* by Algal Elicitor Extracted from *Sargassum fusiforme*. *Scientific World Journal*. V: (2): 9 Pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/870520>. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2020. En línea: <https://www.gob.mx/siap>.
- Sluis, A. y Hake, S. (2015). Organogenesis in plants: initiation and elaboration of leaves. *Trends in Genetics*. 31, (6). Pp 300-306.
- Smith, I., Dunez, J., Lelliot, R., Phillips, D y Archer, S. (1988). Manual de enfermedades de las plantas. 1ra Edición. Editorial Blackwell Scientific Publications LTD. 76-78p.

- Smith, R. (2012). Plant tissue culture: techniques and experiments. *Revista Scientific Multidisciplinary Journal*, 4(1), 1–11.
- Soliva, R. C., Elez, P., Sebastián, M., y Martín, O. (2000). Evaluation of browning effect on avocado purée preserved by combined methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 261–268.
- Spoel, S.H., Dong, X. (2012). How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev* 12: 89– 100.
- Struik, P.C., Lommen, W.J.M. (1990). Field performance of minitubers of different sizes. Abstracts 11th Triennial Conference of the European Association for Potato Research pp. 376-377.
- Suárez Cardoso, O.M.S., Gómez, E.N., Garcés, L.A., Trujillo, S.B. (2011). Organogénesis directa *in vitro* a partir de hojas de la planta Antiplasmodial *Solanum nudum* Dunal. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 13(2).
- Thakur M, Singh BS, (2013). Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: Biochemistry. 762412:10 pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/762412>.
- Thorpe, T.A. (2014). History of Plant Tissue Culture. *Methods in Molecular Biology*, 318.
- Valderrama-Alfaro, S. Ruíz, C., Quispe-Chávez, J., Sánchez-Marín, R. (2011). Regeneración *in vitro* de plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.), a partir de explante foliares. *Biotecnología Vegetal*, 11, (1). 15.

- Vallad, G.E and Goodman, R.M. (2004). Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. Published in Crop Sci. 44:1920–1934. Crop Science Society of America
- Vásquez, S.C., Molina-Müller, M.L., Fahrenkrog, P.S., Uquillas, C.A.M., Sánchez, E.I.V. (2020). Organogénesis *in vitro* en *Sophora toromiro* a partir de segmentos nodales en *Sophora toromiro*. 20, (2).
- Vázquez, I. R. (1996). Comportamiento del cultivo de la papa en la UBPC de la E.C.V. “Valle del Yabú”, (3), 57pp., Trabajo de Estancia, Universidad Central de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Villa Clara, Cuba.
- Wei, J., Wang, L., Zhu, J., Zhang, S., Nandi, O. I., Kang, L. (2007). Plants attract parasitic wasps to defend themselves against insect pests by releasing hexenol. PLOS one. 2(9): 852.
- White, P. J.; Whcatley, R. E; Hammond, J. P and Zhang, K. (2007). Minerals, Soils and roots. In Vreugdenhil, D. (ed.). Potato biology and biotechnology, advances and perspectives. Elsevier Amtersdan. 739-752 p.
- Yepes, A. (2006). Revigorización y establecimiento *in-vitro* de *Gmelina arborea* Roxb.V. Mediante cultivo de tejidos vegetales. Colombia Forestal, 9, (19) p:70-87
- Zaheer, K. y Humayoun, M. A. (2014). Recent advances in potato product, usage, nutrition- a Review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. American Journal of Food, Nutrition and Health. (3), (3). 2018, pp. 37-41.
- Zeladon, M., M. A. (2006). Organogénesis directa y embriogénesis indirecta en el cultivo de Quequispe (*Xhantosoma sagittifolium* L.) variedad blanca.

Zúñiga-Chila, S.J., Morales-Espinoza, C., Estrada-Martínez, M.E. (2017). Cultivo de la papa y sus condiciones climáticas, 2, (2).

7 Anexos

Cuadro 1A. Análisis de varianza del efecto de los elicitores sobre el número brotes de *Solanum tuberosum* L. durante 3 meses.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Tratamiento	1354.334	3	451.445	145.375	.000
Dosis	15.144	2	7.572	2.438	.088
Tratamiento * Dosis	111.468	4	27.867	8.974	.000
Evaluación	1344.366	23	58.451	18.822	.000
Error	4369.266	1407	3.105		
Total	52671.000	1440			

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2A. Análisis de varianza del efecto de los elicitores sobre el Long Brotes de *Solanum tuberosum* L durante 3 meses.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Tratamiento	118.081	3	39.360	120.539	.000
Dosis	38.852	2	19.426	59.492	.000
Tratamiento * Dosis	82.309	4	20.577	63.017	.000
Evaluación	2755.592	23	119.808	366.907	.000
Error	459.436	1407	.327		
Total	23100.866	1440			

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).

Cuadro 3A. Análisis de varianza del efecto de los elicitores sobre el Numero raices de *Solanum tuberosum* L durante 3 meses.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Tratamiento	1349.748	3	449.916	197.299	.000
Dosis	85.400	2	42.700	18.725	.000
Tratamiento * Dosis	542.318	4	135.580	59.455	.000
Evaluación	380.903	23	16.561	7.262	.000
Error	3208.483	1407	2.280		
Total	8284.784	1440			

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).

Cuadro 4A. Análisis de varianza del efecto de los elicitores sobre el Long raices de *Solanum tuberosum* L durante 3 meses.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Tratamiento	752.534	3	250.845	196.584	.000
Dosis	113.171	2	56.586	44.345	.000
Tratamiento * Dosis	240.920	4	60.230	47.202	.000
Evaluación	209.235	23	9.097	7.129	.000
Error	1795.359	1407	1.276		
Total	4735.204	1440			

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).

Cuadro 5A. Análisis de varianza del efecto de los elicitores sobre la Inducción de callo en *Solanum tuberosum* L durante 3 meses.

FV	SC	GL	CM	F	Sig.
Tratamiento	11290.460	3	3763.487	2.913	.033
Dosis	626.450	2	313.225	.242	.785
Tratamiento * Dosis	840.864	4	210.216	.163	.957
Error	1707745.370	1322	1291.789		
Total	5644847.000	1332			

Medias con la misma letra en cada columna muestran diferencia significativa, Tukey sig. ($p \leq 0.05$).