

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE AGRONOMÍA



**DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO
DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACIÓN CON EL
NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CÉLULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS.**

LAURA PAULINA CASTILLO RODRÍGUEZ

QUETZALTENANGO, NOVIEMBRE DE 2016.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE
DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
INGENIERO AGRÓNOMO

**DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO
DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACIÓN CON EL
NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CÉLULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Presentado a las autoridades de la División de Ciencia y Tecnología del Centro Universitario de Occidente de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Por:

LAURA PAULINA CASTILLO RODRÍGUEZ

Previo a conferirse el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

En el grado académico de:

LICENCIATURA

Asesor

Ingeniera Agrónoma Glenda Pérez.

Quetzaltenango, Noviembre de 2016.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE

AUTORIDADES

Rector Magnífico
Secretario General

Dr. Carlos G. Alvarado Cerezo
Dr. Carlos Enrique Camey Rodas

CONSEJO DIRECTIVO

Directora General del CUNOC
Secretario Administrativo

MSc. María del Rosario Paz Cabrera
MSc. Silvia del Carmen Recinos

REPRESENTANTE DE LOS DOCENTES

Ing. Agr. MSc. Héctor Alvarado Quiroa
Ing. Edelman Monzón López

REPRESENTANTE DE LOS ESTUDIANTES

Br. Luis Ángel Estrada García
Br. Julia Hernández de Domínguez

REPRESENTANTE DE LOS EGRESADOS

Lic. Vilma Tatiana Cabrera Alvarado

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Lic. Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez

COORDINADOR DE LA CARRERA DE AGRONOMÍA

Ing. Agr. MSc. Imer Vásquez Velásquez

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
CENTRO UNIVERSITARIO DE OCCIDENTE

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN TÉCNICO PROFESIONAL

PRESIDENTE

Lic. Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez

EXAMINADORES

Ing. Agr. Floridalma Jacobs Reyes
Ing. Agr. Dafne Camas
Ing. Agr. MSc. Jorge Morales Alistum

SECRETARIO

Ing. Agr. MSc. Imer Vásquez Velásquez

NOTA: Únicamente el autor es responsable de las doctrinas y opiniones sustentadas en la presente investigación “Artículo 31 del Reglamento para Exámenes Técnicos Profesionales del Centro Universitario de Occidente. Y Artículo 19 de Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala”

Quetzaltenango Noviembre de 2016

Honorable Consejo Directivo
Honorable Autoridades de la División de Ciencia y Tecnología
Honorable Mesa de Acto de Graduación y Juramentación

De conformidad con las normas que establece la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, del Reglamento general de evaluación y promoción del estudiante del Centro Universitario de Occidente; tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACIÓN CON EL NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CÉLULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS

Como requisito para optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola en el grado de Licenciatura.

Atentamente

LAURA PAULINA CASTILLO RODRIGUEZ

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Quetzaltenango, octubre de 2016

A:
Q.F. Roberto Méndez.
Director de División de Ciencia y Tecnología.
Universidad de San Carlos de Guatemala. -USAC-.
Centro Universitario de Occidente -CUNOC-.
Edificio.

Respetable Licenciado:

Atentamente me dirijo a Usted, para informarle que a la fecha he finalizado la ASESORIA del trabajo de graduación del estudiante LAURA PAULINA CASTILLO RODRIGUEZ, cuyo título:

DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACIÓN CON EL NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CELULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS.

Al respecto, me permito manifestarle que dicha investigación es pionera en su temática y representa un valioso aporte para el sector papero de nuestro país y cumple con los requerimientos de Trabajo de Graduación establecidos por la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Carrera de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado de Licenciado en Ciencias Agrícolas, por lo que RECOMIENDO SU PUBLICACION.

Sin otro particular



Ing. Agr. Glenda Edelmira Pérez García
ASESORA

Técnico en Biotecnología
Colegiado 2,084



Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro Universitario de Occidente

Quetzaltenango, 21 de octubre de 2016.

Lic. Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez
Director División de Ciencia y Tecnología
Centro Universitario de Occidente.

Distinguido Director:

En atención al nombramiento emitido por esa dirección, según Oficio No. 150/SDCyT/2016, me es grato informarle que he concluido la revisión del trabajo de graduación de la estudiante **Laura Paulina Castillo Rodríguez**.
Titulado:

"DETERMINACION DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACION CON EL NUMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CELULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS"

En relación a lo anterior, me es grato manifestarle, que el estudio cumple con los requisitos exigidos por esta unidad académica para ser presentado como trabajo de graduación, además de ser un valioso aporte en la generación de metodología en el análisis citológico necesario para el estudio del comportamiento cromosómico en las células somáticas de la raíz. Por lo que recomiendo su aprobación.

De Usted, deferentemente.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Inga. Agra. Florida Jacobs Reyes
Revisora

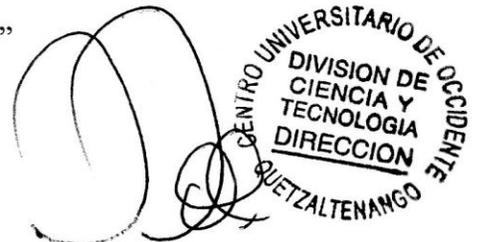
***Centro Universitario de Occidente
División de Ciencia y Tecnología***

El infrascrito **DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGIA**

Del Centro Universitario de Occidente ha tenido a la vista la **CERTIFICACIÓN DEL ACTA DE GRADUACIÓN** No. 018-AGR-2016 de fecha veinticuatro de octubre del año dos mil dieciséis del (la) estudiante: LAURA PAULINA CASTILLO RODRÍGUEZ con Carné No 200830899 emitida por el Coordinador de la Carrera de AGRONOMIA, por lo que se **AUTORIZA LA IMPRESIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN** titulado: **“DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO DE CROMOSOMAS EN PAPA (Solanum tuberosum) Y LA RELACIÓN CON EL NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CELULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS.”**

Quetzaltenango, 25 de octubre de 2016.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”



Lic. Q.F. Aroldo Roberto Méndez Sánchez
Director de División de Ciencia y Tecnología

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS: Me has mandado a que me esfuerce y ser valiente, ha no temer ni desmayar porque Jehová estará conmigo a donde quiera que vaya.

MIS ABUELITOS: Romeo Castillo, Lilian Girón, Edmundo Rodríguez, Antonieta Ochoa (Q.E.P.D) por ese legado de amor que trasciende generaciones.

MIS PADRES: Oscar Castillo y Claudia Rodríguez; por ser esos ángeles en la tierra que me acompañan y guían, por su amor, comprensión, esfuerzos y sacrificios, este triunfo es de ustedes.

MIS HERMANAS: Larissa y Sheyla Castillo; por su presencia en todos los momentos de mi vida, por el apoyo y cariño. Que éste triunfo les sirva de ejemplo para su superación.

MI SOBRINO: Josué Castillo; que Dios te bendiga y te permita alcanzar todas tus metas.

MI PRIMO: Carlos Castillo; por tus consejos, tu cariño y por la alegría de poder compartir con vos este triunfo.

MI FAMILIA: Como muestra de cariño y respeto.

MIS AMIGOS: Cristabel Navas, Arnoldo Castillo, Eduardo Cáceres, Miguel Villatoro, Luis Cruz, Gustavo Diemek, Pedro Joachin, Oscar Alvarado, por la amistad que me han dado, por inolvidables recuerdos de estudiantes, por los momentos de alegría y tristeza compartidos durante la carrera y porque más que amigos son como mis hermanos.

MIS AMIGAS: Camila, Jimena, Rosario que de una forma u otra estuvieron involucradas en apoyarme en la culminación de mi tesis.

A: Pedro Luis Morales por ser un ejemplo para mí, siempre vivirás en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A:

DIOS

Fuente de vida, luz, amor y sabiduría, infinitamente agradecida.

MI PATRIA GUATEMALA

País por el que siempre lucharé.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Tricentaria Alma Mather de la educación superior en Guatemala.

DIVISION DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

Por formarme profesionalmente.

MIS DOCENTES

Por los conocimientos adquiridos, esperando transmitirlos a muchas personas.

INSITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIAS AGRICOLAS

Por permitirme desarrollar éste trabajo de graduación y por incentivar la investigación agrícola.

MI ASESORA

Ing. Glenda Pérez, por su apoyo y comprensión en el desarrollo de ésta investigación.

TÍTULO

DETERMINACIÓN DEL INSTANTE APROPIADO PARA EFECTUAR EL CONTEO DE CROMOSOMAS EN PAPA (*Solanum tuberosum*) Y LA RELACIÓN CON EL NÚMERO DE CLOROPLASTOS EN LAS CÉLULAS GUARDA DE LOS ESTOMAS.

ÍNDICE

TÍTULO.....	i
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	vii
RESUMEN.....	viii
1 INTRODUCCION.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
1.1.1 General.....	3
1.1.2 Específicos.....	3
1.2 HIPÓTESIS.....	4
2 MARCO TEORICO.....	5
2.1 Generalidades del cultivo.....	5
2.2 Solanum tuberosum.....	5
2.3 Ciclo vegetativo de la papa.....	5
2.4 Reproducción vegetativa de la papa.....	7
2.5 Variedad loman.....	7
2.6 Mejoramiento genético de papa.....	7
2.7 Citogenética.....	8
2.8 División celular.....	9
2.9 Mitosis.....	9
2.10 Duración del ciclo celular.....	10
2.11 Importancia de determinar el nivel de ploidía.....	11
2.12 Determinación de ploidía en células somáticas.....	11
2.13 Relación de ploidía con cambios estructurales en la planta.....	11
2.14 Métodos para el conteo de cromosomas en raíces de papa.....	12
2.15 Polinización y fertilización.....	12
2.16 Fotosíntesis.....	13
2.17 Cloroplastos.....	13
2.18 Conteo del número de cloroplastos en células guarda de papa.....	13
2.19 Estomas.....	13

2.20	Relación de ploidía y características de los estomas.....	14
2.21	Hormonas vegetales	14
3	MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1	Ubicación Geográfica.....	15
3.2	Descripción de la investigación.....	15
3.2.1	Localización.....	15
3.2.2	Obtención del material.....	15
3.2.3	Determinación de la altura y la hora para la extracción de ápices radiculares.....	15
3.2.4	Prefijación.....	16
3.2.5	Fijación	16
3.2.6	Hidrólisis	16
3.2.7	Tinción.....	16
3.2.8	Aplastamiento.....	16
3.2.9	Observación	16
3.3	Diseño Experimental	17
3.4	Modelo Estadístico	17
3.5	Descripción de los tratamientos	17
3.6	Determinación de la hora de corte de raíces.....	18
3.7	Unidad experimental	18
3.8	Variables en estudio	18
3.8.1	Altura de planta	18
3.8.2	Hora de corte de raíz.....	18
3.8.3	Número de cloroplastos presentes en las células guarda.....	18
3.9	Conteo de cloroplastos en células guarda.....	18
3.9.1	Toma de la muestra.....	18
3.9.2	Procedimiento.....	19
3.9.3	Observación	19
3.10	Manejo agronómico.....	19
3.10.1	Llenado de macetas	19
3.10.2	Siembra.....	19
3.10.3	Fertilización	19

3.10.4	Riego.....	19
3.10.5	Toma de datos.....	19
3.11	Descripción de los análisis	20
3.11.1	Análisis mediante ecuaciones propuestas por Poggio y colaboradores.....	20
3.11.2	Análisis de varianza.....	20
3.11.3	Análisis de medias	20
3.12	Recursos	21
3.12.1	Físicos.....	21
3.12.2	Humanos.....	21
3.12.3	Económicos	21
4	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	23
4.1	Análisis de varianza.....	23
4.2	Discusión	26
4.2.1	Observación y conteo de cromosomas	26
4.2.2	Observación y conteo de cloroplastos	26
5	CONCLUSIONES	28
6	RECOMENDACIONES	29
7	BIBLIOGRAFIA.....	30
8	GLOSARIO.....	33
9	ANEXOS.....	36
9.1	Cronograma.....	36
9.2	Cuadros de Poggio y sus colaboradores.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

No. Tabla	Contenido	Página
1	Determinación de la altura y la hora para la extracción de ápices radiculares.	16
2	Distribución de los tratamientos.	17
3	Descripción de los tratamientos.	17
4	Determinación de la hora de corte de raíz.	18
5	Recursos económicos de la investigación.	22

ÍNDICE DE CUADROS

No. Cuadro	Contenido	Página
1	Análisis de varianza del conteo de células en estado metafásico de muestras radicales de <i>Solanum tuberosum</i> .	23
2	Medias del test LSD de Fisher para la variable altura de plántula de <i>Solanum tuberosum</i> .	24
3	Medias del test LSD de Fisher para la variable colecta de ápice radicular de plántulas de <i>Solanum tuberosum</i> .	24
4	Comparación de medias para la interacción de las dos variables (altura de plántula y hora de corte de raíz) para un mayor número de células en etapa metafásica en ápices radiculares de <i>Solanum tuberosum</i> .	25
5	Promedio de No. De cloroplastos por células guarda de <i>Solanum tuberosum</i> .	27

ÍNDICE DE IMÁGENES

No. Imagen	Contenido	Página
1	Ubicación del Municipio de Olintepeque en el Departamento de Quetzaltenango.	40
2	Ubicación del Instituto de Ciencia y Tecnologías Agrícolas -ICTA-.	41
3	Áreas de producción de papa en Guatemala.	42
4	Ciclo vegetativo de la papa <i>Solanum tuberosum</i> .	43
5	Equipo de cómputo, software y cámara fotográfica, microscopio.	44
6	Plántulas preparadas para la extracción de ápices radiculares.	45
7	Colecta de ápices radiculares del cultivar Loman.	46
8	Elaboración de montajes de ápices radiculares de Loman.	47
9	Toma de microfotografías del ciclo de la mitosis.	48
10	Célula en etapa de metafase, muestra radicular de plántula de 15 centímetros de altura.	49
11	Estoma de hojas de <i>Solanum tuberosum</i> de la variedad Loman.	50
12	Gráfica del ciclo celular mitótico de <i>Solanum tuberosum</i> de la variedad Loman.	51

RESUMEN

El principal objetivo del trabajo fue adaptar la técnica de citología propuesta por Orrillo & Bonierbale (2009), y de ésta manera contribuir al planteamiento de estrategias para apoyar al programa de hortalizas del Instituto de Ciencia y Tecnologías Agrícolas -ICTA- en el mejoramiento genético del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*). El -ICTA- está ubicado en el municipio de Olintepeque, departamento de Quetzaltenango; es la Institución guatemalteca que produce tubérculos de semilla de categoría básica de papa bajo el sistema In-Vitro-Invernadero-Campo, para abastecer a las organizaciones productoras de papa del occidente del país.

Las organizaciones productoras de papa, en la actualidad se ven afectadas debido a que no existe diversidad en cultivares que se adapten al cambio climático y que respondan a sus necesidades. Este cultivo presenta diferentes problemas entre estos, susceptibilidad a algunas enfermedades las cuales son las principales causantes de grandes pérdidas en la producción, por lo cual el -ICTA- a través del programa de hortalizas, pretende iniciar con un programa de mejoramiento genético para el cultivo de papa, obteniendo variedades que se adapten a los cambios climáticos y sobre todo resistentes a enfermedades para contribuir a mejorar la producción y en un futuro; disminuir problemas que el agricultor encuentra actualmente.

El ensayo se realizó en un invernadero del programa de hortalizas, utilizando un diseño de Bloque Irrestricto Azar, con parcelas divididas; se prepararon 27 macetas con sustrato peatmoss, se sembraron tubérculos brotados de papa de la variedad LOMAN, con las plántulas ya emergidas y teniendo una altura de unos 5 a 15 cm. se colectaron ápices radiculares entre las 9 a 11 de la mañana; en el laboratorio de Biología Molecular del -ICTA-, se prepararon muestras para analizarlas bajo un microscopio óptico, se tomaron microfotografías para observar y cuantificar la división celular mitótica.

Se tabularon los datos obtenidos de la observación celular mitótica, realizando el conteo de células en estado de metafase para la visualización de los cromosomas. Lo que nos permitió conocer la ploidía de la variedad Loman. Esta exhibió una dotación de $3X=36$ cromosomas, además se comparó la ploidía con el conteo de cloroplastos en las células de guarda de los estomas ambas técnicas evaluadas determinaron que la variedad es considerada triploide.

Actualmente se desconoce la base genética con la que cuenta el país, no hay información suficiente de los procedimientos más adecuados para mejorar variedades genéticamente, por lo que el reconocimiento de los aportes de la metodología utilizada en la presente investigación, en la cual se estandarizó un protocolo con una técnica de citología utilizada en el laboratorio de citogenética del Centro Internacional de la papa -CIP-. En donde se exponen las herramientas para estudiar el comportamiento cromosómico en las células somáticas de la raíz, entre éstas; número cromosómico, conocer la ploidía del cultivar en estudio, hora de mayor división celular mitótica, altura de la plántula más adecuada para la observación de células en estado de metafase, relación de número cromosómico con el número de cloroplastos en las células de guarda de los estomas en las hojas. Ayudando a proyectar un plan de mejoramiento genético.

Palabras clave: citología, mejoramiento genético, división celular mitótica, metafase, cromosomas, ploidía, células somáticas, cloroplastos, estomas, células de guarda.

ABSTRACT

The main objective was to adapt the technique proposed by cytology Orrillo & Bonierbale (2009), and thus contribute to the approach of strategies to support the program of vegetables Institute of Agricultural Science and Technology -ICTA- in the genetic improvement of cultivation of the potato (*Solanum tuberosum*). The -ICTA- is located in the municipality of Olinstepeque, Quetzaltenango department; Guatemala is the institution that produces tubers basic category seed potatoes under the In-Vitro-Greenhouse-field system, to supply the potato producing organizations west.

Potato producer organizations, currently affected because there is no diversity in cultivars that are adapted to climate change and to meet their needs. This culture presents different problems among these, susceptibility to some diseases which are the main cause of large losses in production, so the -ICTA- through the program of vegetables, intends to start a breeding program for the cultivation potato, obtaining varieties adapted to climate change and disease resistant especially to help improve production and in the future; reduce problems that farmers currently.

The trial was conducted in a greenhouse vegetable program, using a block design Unrestricted Azar, with split plot; 27 pots were prepared peatmoss substrate, sprouted potato tubers LOMAN variety were planted with seedlings already emerged and with a height of about 5 to 15 cm. root tips were collected between 9 am to 11 am; in the laboratory of Molecular Biology -ICTA-, samples for analysis under an optical microscope were prepared, photomicrographs were taken to observe and quantify mitotic cell division.

Data obtained from cell mitotic tabulated observation, performing cell count state of metaphase chromosomes display. This allowed us to know the ploidy of the variety Loman. This exhibited a strength of $3X = 36$ chromosomes, plus the ploidía with counting chloroplasts in guard cells of stomata both assessed technical determined that the variety is considered triploid was compared.

The genetic basis with which the country is currently unknown, there is insufficient information on the most suitable for improving genetic varieties procedures, so that the recognition of the contributions of the methodology used in this investigation, which was standardized a protocol with cytology technique used in the cytogenetics laboratory of the International potato Center -CIP-. Where the tools are exposed to study chromosome behavior in somatic cells of the root, among them; chromosome number, known ploidy grown in study time increased mitotic cell division, height of the best seedling for observing cells in a state of metaphase ratio chromosome number with the number of chloroplasts in the guard cells of the stomata in the leaves). Helping to project a breeding plan.

Keywords: cytology, genetic improvement, mitotic cell division, metaphase chromosomes, ploidy, somatic cells, chloroplasts, stomatal guard cells.

1 INTRODUCCION

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en Guatemala, además de ser uno de los cultivos más importantes desde el punto de vista social y económico; forma parte de la actividad de los agricultores, es fundamental en la dieta de los guatemaltecos; por esto su importancia tanto para el consumo como para la agroindustria guatemalteca. (22)

Dentro de las áreas óptimas para el cultivo de la papa se encuentran los departamentos siguientes: Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Sololá, Chimaltenango, Sacatepéquez, Quiché, Totonicapán, Guatemala, Alta y Baja Verapaz, Jutiapa y la parte alta de Jalapa. Las principales variedades cultivadas son Loman, Tollocan y Atzimba, los productores de papa del país, actualmente exportan hacia el sur de México y El Salvador, este último, también vende la producción guatemalteca hacia Honduras y Nicaragua. (22)

La Asociación Nacional de Productores de Papa, se han integrado recientemente a la familia de AGEXPORT, buscando herramientas que le permitan fortalecer su plan de trabajo, con miras al mercado internacional. Entre las metas de la Asociación está impulsar la Agenda Nacional de la Papa, para tener un peso político y económico en el país, y trabajar una marca propia para exportarla con denominación de origen. (10)

El Instituto de Ciencia y Tecnologías Agrícolas -ICTA- es la única Institución guatemalteca que produce tubérculos de semilla de categoría básica de papa bajo el sistema In-Vitro -Invernadero-Campo; para abastecer a las organizaciones de productores de papa. El sistema de producción de tubérculos semilla de papa, desarrollado en los últimos años por el -ICTA-, comprende los procesos de termoterapia a plantas completas, Cultivo de meristemos, Diagnóstico para virus por la técnica ELISA, Cultivo de micro-esquejes, aclimatación de plantas en "peat-moss" Cultivo de vitro-plantas en invernadero, Cultivo de mini tubérculos en el campo. Este sistema es pionero en Guatemala y a nivel de la región centroamericana. Todo este proceso ha sido desarrollado con dos objetivos: Rejuvenecer los materiales vegetales (variedades) y eliminar patógenos en los materiales de propagación.

Actualmente, existe una amplia variabilidad entre los distintos cultivares de *Solanum tuberosum*, en relación al proceso evolutivo, en el cuál han sucedido cambios en el número de cromosomas nivel de ploidía ($2n= 2x, 3x, 4x, 5x$ y $6x$). Éste se determina contando el número de cromosomas en las células somáticas. Sin embargo, en algunos casos se puede tener un estimado rápido del número cromosómico mediante la determinación del número de cloroplastos en las células guarda de los estomas. (17)

Determinar la citogenética de una especie vegetal brinda valiosos aportes para la resolución de problemas taxonómicos y evolutivos. Los taxónomos y evolucionistas están familiarizados con el hecho de que los cromosomas son parte de un sistema dinámico que está moldeando el proceso de evolución de las especies, ésta variación se expresa en características fácilmente analizables como el número, forma y tamaño de los cromosomas. Resulta imposible realizar un análisis citogenético, si previamente no ha sido determinada una metodología que permita una adecuada observación y conteo de los cromosomas.

La citología ayuda a describir mejor una especie con diversidad de ploidía, ya que nos permite la identificación del número cromosómico; pudiendo marcar un desarrollo evolutivo en la especie a estudiar (23). Los estudios en cromosomas identifican factores que intervienen para la especiación, los cuales forman barreras de aislamiento que permiten una divergencia evolutiva, siendo los poliploides especies altamente heterocigóticas (26). Las plantas con cambios en el nivel de ploidía presentan modificaciones en sus características genotípicas con ventajas que son aprovechadas por el hombre, como mayor capacidad de adaptarse a distintos lugares o ser más resistentes a las sequías y heladas (6). Existen diferentes técnicas para identificar los cromosomas; por citometría de flujo, a través de células meristemáticas de ápices radiculares (mitosis) y la relación del número de estomas por un campo ocular (6) obteniendo el promedio del número de cloroplastos en las células guardas de los estomas (21).

Los niveles de ploidía han sido de gran importancia en la clasificación e identificación de variedades de papas cultivadas. Los primeros conteos de cromosomas en variedades de papas cultivadas y el descubrimiento de distintos niveles de ploidía (diploide, triploides, tetraploides y pentaploides) son mencionados Bukasov (3).

En el mejoramiento genético del cultivo de papa, se obtienen variedades rendidoras y sobre todo resistentes a enfermedades, las cuales son las principales causantes de las pérdidas en la producción. Existe una gran diversidad de especies silvestres y éstas tienen un alto nivel de resistencia a plagas y enfermedades. Consecuentemente, estos materiales constituyen valiosos recursos en el mejoramiento genético del cultivo, que pueden permitir la solución a problemas presentes y futuros que afectan la productividad y sanidad de este cultivo.

Por lo cual el -ICTA- a través del Programa de Hortalizas, y teniendo como base este trabajo de investigación pretende iniciar con un programa de mejoramiento genético para el cultivo de papa, para contribuir en un futuro con los diferentes problemas que el agricultor encuentra actualmente.

En esta investigación se adaptó la técnica de citología propuesta por Orrillo & Bonierbale 2009; para *Solanum tuberosum* y de esta manera contribuir al planeamiento de estrategias para apoyar al programa de hortalizas en mejoramiento genético. La cual consistió en sembrar en macetas pequeñas con peatmoss, tubérculos bien brotados; con las plántulas ya emergidas se colectaron ápices radiculares entre las 9 a 11 de la mañana con plantas de unos 5 a 15 cm. de altura; se prepararon muestras para analizarlas bajo un microscopio óptico, se tomaron microfotografías para estudiarlas y observar la división celular mitótica. Principalmente la metafase, que es una de las etapas más importantes para los estudios citogenéticos porque las características que conforman los cromosomas son más visibles, esto nos permitió conocer la ploidía de éste cultivar con una dotación de $3X=36$ cromosomas, además se comparó el conteo de cloroplastos con el nivel de ploidía ambas técnicas evaluadas determinaron que la variedad Loman es considerada triploide.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General

- Adaptar la técnica de citología para apoyar al programa de mejoramiento genético en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*).

1.1.2 Específicos

- Determinar la hora de corte de raíz más efectiva para la observación de un mayor estadio metafásico en raíces de papa.
- Definir la altura de planta más adecuada para la observación del mayor estadio metafásico en raíces de papa
- Determinar la relación existente entre ploidía con el número de cloroplastos en las células de guarda en los estomas.

1.2 HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa

Ha1- Al menos en una de las tres horas de colecta de raíces de papa tendrá un mayor número de etapa metafásica para el conteo de cromosomas.

Ha2- Al menos en una de las tres alturas de papa tendrá un mayor número de etapa metafásica para el conteo de cromosomas.

Ha3- El número de cloroplastos en las células de guarda de los estomas está relacionado directamente con el número de cromosomas.

2. MARCO TEORICO

2.1 Generalidades del cultivo

La papa o patata (*Solanum tuberosum*) es una planta de la familia de las Solanáceas. Según el botánico y genetista Nikolai Ivánovich Vavilov, en su estudio sobre "la geografía de las plantas cultivadas", las primeras evidencias arqueológicas avalaban un "origen dual" con centro en el altiplano andino del Perú y en el archipiélago de Chiloé, en Chile. Sin embargo durante el 2005, el estudio genético emprendido y dirigido en la universidad de Wisconsin, por el experto David Spooner, especialista del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, se estableció a través del análisis de marcadores genéticos de unas 360 especies de *Solanum*, que:

"...todas se originaron a partir de la domesticación del *S. bukasovii* en el sur del Perú y oeste de Bolivia", alrededor de 8.000 años antes de Cristo. (8).

De este único origen surgió el híbrido *S. tuberosum* ssp. Variedad salvaje pampeana, que es el más cultivado en el mundo. De acuerdo con esta investigación, se concluye que la papa es oriunda del actual territorio del Perú. (28).

La papa es uno de los cuatro alimentos más importantes del mundo junto al maíz, el trigo y el arroz, por lo que se constituye en el principal alimento de origen no cereal para la humanidad. La FAO (2010) reporta un área cultivada mundial de 18.192.405 hectáreas con una producción de 314.407.107 toneladas para el año 2008. El Centro Internacional de la Papa reporta más de 4.000 variedades comestibles de papa, más de 4.300 variedades de papas nativas y unas 180 especies silvestres de papa en el mundo; en unos 100 países se cultiva papa en alturas comprendidas entre 0 y 4.700 msnm, en zonas tropicales, intertropicales y en zonas templadas. (30)

2.2 *Solanum tuberosum*

La papa cultivada a nivel mundial es denominada *Solanum tuberosum*, Según Bukasov (4) el centro de diversidad genética de las papas cultivadas esta en Sudamérica, Además, como centro secundario de variabilidad de papas cultivadas se considera a la zona de Sudamérica, particularmente Chile (14). Según Hawkes, (15). La especie *Solanum tuberosum* cuenta con un nivel de ploidía $2n = 48$. Algunos autores sugieren que la evolución de *S. tuberosum* surgió probablemente del cruce entre ssp. andígena como progenitor macho y otra especie silvestre no identificada (14).

2.3 Ciclo vegetativo de la papa

- Brotación y emergencia

Los cultivos comerciales de papa se instalan utilizando tubérculos como 'semilla'. Los tubérculos, mientras se forman y aún luego de la senescencia de la planta tienen una alta concentración de inhibidores del crecimiento que impiden que las yemas broten. Este período de dormancia tiene una duración variable (7-12 semanas aprox.) y depende fundamentalmente de la variedad y de las condiciones de temperatura, humedad y luz a las que se almacenan los tubérculos. La relación entre inhibidores y promotores del crecimiento va variando gradualmente. El tubérculo pasa del estado de dormancia a un estado que se denomina de brotación apical, en el

cuál la yema apical del tubérculo comienza a brotar mientras que las otras aún están inhibidas. Si en este estado los tubérculos son plantados y puestos en condiciones de buena disponibilidad de agua y 17-20°C de temperatura de suelo, la yema apical crecerá y se desarrollará rápidamente, produciéndose por cada tubérculo semilla un solo tallo, que luego se ramificará intensamente.

- Crecimiento del follaje

En las primeras etapas del desarrollo, el crecimiento de la planta es sostenido por las reservas acumuladas en el tubérculo. La gran cantidad de reservas que este contiene permite que en condiciones óptimas de temperatura (de 20 a 23°C) la expansión del área foliar sea muy rápida. Al irse consumiendo las reservas y aumentando el área foliar fotosintéticamente activa, esta pasa a ser la fuente principal de asimilados. El cultivo de papa en condiciones óptimas de crecimiento puede llegar a cubrir totalmente el suelo en 40-45 días después de la emergencia. El crecimiento del follaje es resultado de dos procesos combinados: ramificación y aparición de hojas y expansión o crecimiento de las hojas. En la planta de papa al igual que la de tomate, la yema apical del tallo luego de la producción de un número de hojas variable se diferencia en una yema floral. Entonces normalmente las yemas ubicadas en las axilas de la segunda y tercera hoja por debajo de la inflorescencia brotan dando ramas laterales. Estas ramas terminarán también en una inflorescencia pudiendo dar lugar a nuevas ramificaciones. La cantidad de ramificaciones y por lo tanto el número de hojas que se produzcan depende de la duración del período de aparición de hojas y de la tasa de aparición de hojas. Cuanto más largo sea el período de aparición de hojas, mayor cantidad de ramificaciones o ‘pisos’ o niveles de follaje se producirán. A mayor temperatura (hasta 26-28°C) mayor será la tasa de aparición de hojas.

- Tuberización

Cuando los tallos principales de la planta (los que se originan del tubérculo madre) tienen un desarrollo suficiente, es decir cuando la yema apical se diferencia en floral y por lo tanto disminuye la dominancia apical, las yemas subterráneas del tallo que están más cerca del tubérculo madre brotan originando los estolones. Estos tallos subterráneos crecen en longitud hasta que reciben estímulos para iniciar la tuberización. Al iniciar la tuberización cesa el crecimiento en longitud y se ensancha la región subapical del estolón. En el inicio se agranda solamente la región subapical de la punta del estolón. El crecimiento involucra solamente un internodio. Luego se incorpora un segundo internodio al desarrollo del tubérculo. En este estado, por la considerable expansión radial del tubérculo, el gancho se endereza y la yema apical del estolón queda situada en la posición terminal del tubérculo joven. El almacenamiento de reservas continúa incorporando nuevos internodios y es claro que los internodios hacia la corona se acortan en la medida que va disminuyendo el ritmo de crecimiento en longitud. La tuberización procede acropetalmente, involucrando alguna extensión longitudinal y una gran expansión transversal de los sucesivos internodios. Esta forma de crecimiento tiene un componente genético que hace que las distintas variedades tengan distinta forma de tubérculos.

- Senescencia

Cuando el crecimiento del follaje comienza a ser más lento y la tasa de senescencia de las hojas se incrementa, el follaje alcanza su máximo tamaño y comienza a declinar. En este momento estamos en la fase de máximo crecimiento de los tubérculos. Si la estación de crecimiento es lo suficientemente larga, el follaje muere totalmente en forma natural, y sus azúcares y nutrientes

minerales son removilizados y transportados hacia los tubérculos. El crecimiento de los tubérculos continúa hasta que el follaje está casi totalmente muerto. Al final del ciclo entre el 75 y 85 % del total de la materia seca producida por el cultivo se encuentra en los tubérculos. La muerte de la parte aérea del cultivo puede ser natural, debido a una helada, debido a enfermedades o plagas o provocada artificialmente, (mecánica, química o por calor). (1)

2.4 Reproducción vegetativa de la papa

La reproducción vegetativa es una forma de reproducción asexual en plantas. Se trata de un proceso por el cual surgen nuevos individuos sin la producción de semillas y esporas. Puede ocurrir naturalmente o ser inducida por el hombre.

En un sentido amplio, los métodos de propagación vegetativa incluyen corte, apomixis vegetativas, estratificación, división, en ciernes, injerto y cultivo de tejidos. De corte es el método de propagación vegetativa artificial más común, donde se eliminan las piezas de la planta "padre" y se colocan en un ambiente adecuado para que puedan crecer en una planta totalmente nueva, el "clon", que es genéticamente idéntico a los padres.

La propagación vegetativa se considera generalmente como un método de clonación. Sin embargo, hay varios casos en los que la propagación vegetativa no es genéticamente idéntica.

Prácticamente todos los tipos de brotes y raíces son capaces de propagación vegetativa, incluyendo tallos, brotes basales, tubérculos, rizomas, estolones, bulbos y brotes. En algunas especies, las hojas están implicadas en la reproducción vegetativa. (24)

2.5 Variedad loman

Planta con tallos y hojas de color verde oscuro. Su altura de planta varía desde 20-30 cm (3,500 msnm) a 60-65 cm (2,390 msnm). En condiciones de campo no produce flores o algunas veces pocas. La forma del tubérculo puede variar de oblongo alargado a alargado. La pulpa y piel es de color crema, susceptible a Tizón Tardío. Su ciclo vegetativo varía de 80-90 días (2,390 msnm) a 120 días (3,500 msnm). A 2,390 msnm presenta 18.8 % de sólidos y 13.2 % de almidón. De acuerdo a su uso, se caracteriza por ser excelente para papas hervidas y puré; de regular a buena para papalinas y enlatado. Presenta una textura cerosa. Los rendimientos pueden variar de 15 t/ha (3,500 msnm) a 20-30 t/ha (2,390 msnm). (20)

2.6 Mejoramiento genético de papa

El mejoramiento genético de la papa ha empleado metodologías que van desde la simple selección visual, hasta el aprovechamiento del germoplasma presente en las especies silvestres genéticamente relacionadas con la especie cultivada.

La variabilidad genética presente en *Solanum tuberosum* L., parece no ser suficiente para la obtención de nuevas variedades, no obstante el alto número de recombinaciones que se han obtenido mediante cruza intervarietales. Esto ha hecho necesario recurrir al germoplasma silvestre, independientemente de las barreras de incompatibilidad, debido a los diferentes niveles de ploidía, así como al alejamiento del híbrido del tipo comercial. Técnicas como el uso de

dihaploides, el cultivo de tejidos, la hibridación somática, y el empleo de agentes mutagénicos, entre otras, no han quedado fuera del contexto del mejoramiento de la papa.

El objetivo del mejoramiento es obtener genotipos o variedades con atributos diferenciales de los existentes. Básicamente consiste en la selección y cruzamiento de germoplasma, la identificación de clones promisorios y la liberación de variedades.

Desde el punto de vista citogenético, la papa, *S. tuberosum* L., es considerada como un autotetraploide, es decir, una especie con cuatro cromosomas homólogos (AAAA), (9).

El mejoramiento genético de este tubérculo, ha involucrado las siguientes rutas:

—Cruzas Intervarietales. Actualmente se tiene conocimiento de que cada día es más difícil lograr nuevas variedades mediante cruzas intervarietales, (9)

—Cruzas interespecíficas. La transferencia de germoplasma presente en especies silvestres, filogenéticamente relacionadas con la papa común, está limitada por los diferentes niveles de ploidía entre las especies silvestres y las variedades comerciales. Además, en tales cruzas los híbridos presentan pocas características comerciales.

—Mejoramiento a Nivel Diploide. El advenimiento de los dihaploides y monohaploides en papa, ha permitido la elaboración de esquemas para el mejoramiento genético de este cultivo, tanto al nivel diploide como haploide,

(32), que sin duda alguna, no dejan de ser bastante llamativos. Sin embargo, debe considerarse el hecho de que el nivel óptimo de ploidía de la papa es el tetraploide, al cual se debe regresar, independientemente del nivel de ploidía en el cual se realice el mejoramiento (9). De cerca de 30 especies diploides silvestres establecidos para México, ninguna de ellas ha resultado compatible con dihaploides derivados de variedades comerciales de papa; además, deben considerarse los distintos sistemas de incompatibilidad entre dihaploides, (9)

2.7 Citogenética

La citogenética es la disciplina que se encarga de estudiar, la función, forma y comportamiento de los cromosomas. Es una herramienta muy utilizada para comprender problemas mutagénicos como algunas trisomías en el caso de humanos, en las plantas permiten entender el desarrollo evolutivo y especiación y sirve como una herramienta para el mejoramiento genético. Existen diferentes niveles de ploidía como los siguientes: haploides, estos son células u organismos que presentan tan sólo un juego de cromosomas, este nivel de ploidía es muy común en las células gaméticas; diploides, presentan dos juegos de cromosomas y este nivel es muy común en todos los organismos y con mayor frecuencia en animales; los organismos con una ploidía igual o mayor de tetraploide se conocen como poliploides, estos organismos se presentan con frecuencia en algunas especies (5).

La citogenética clásica y molecular ha hecho posible el análisis, interpretación y trascendencia de ciertas características, desde las más simples a las más complejas (cromosomas y genes, cromosomas condensados y linearizados), contribuyendo en gran medida a la resolución de problemas en aspectos taxonómicos, evolutivos y aplicativos.

Asimismo, los estudios citogenéticos permiten realizar valiosos aportes al conocimiento de los mecanismos de aislamiento reproductivo y modos de especiación en las plantas. (21)

La citología es una de las ciencias que ha influido de manera significativa sobre la taxonomía y la evolución durante las últimas décadas, ya sea sola (Citotaxonomía) o combinada con la genética (Citogenética). Los caracteres citológicos (ciclo celular, número y morfología cromosómica) son usados en forma similar a cualquier otra clase de datos comparativos (16)

Las investigaciones citológicas no sólo dan a conocer las peculiaridades citogenéticas de los organismos (ciclo celular, número y morfología cromosómica), sino que gracias a la particular condición de los cromosomas como portadores de la herencia también nos permiten (29)

- Utilizar criterios adicionales para la clasificación taxonómica y filogenética de las especies.
- Aclarar una serie de problemas evolutivos (tanto generales como referidos al origen de determinados grupos).
- Predecir el comportamiento de las muestras en los bancos de cultivos in vitro
- Asimismo constituyen un requisito indispensable para la caracterización a nivel molecular.

2.8 División celular

Es un proceso continuo que ocurre en todos los organismos vivos. Las etapas a través de las cuales pasa la célula de una división celular a la siguiente constituyen el ciclo celular.

El ciclo celular se divide en dos fases principales:

El periodo de división o fase M (mitosis o meiosis) y la interfase, llamada de esa manera, pues antes se pensó que era un periodo de reposo de la célula entre división y división. En esta fase se llevan a cabo la revisión de la división celular, en donde actúan los sistemas reguladores (bloqueadores o inductores), siendo el período de máxima actividad metabólica de la célula.

La interfase comprende tres etapas:

- G1 (fase de crecimiento celular activo, síntesis de proteínas y ARN),
- S (fase de síntesis de ADN, se replica el material genético dando origen a dos cadenas nuevas) y
- G2 (otra etapa de crecimiento, más breve que la G1, en la cual se acumulan los productos necesarios para la división celular). (22)

2.9 Mitosis

Este tipo de división celular se lleva a cabo en células somáticas y no implican una variación genética es decir: la información genética es la misma de la célula madre y las hijas.

Es un proceso continuo, en el cual se suceden en una secuencia cuidadosamente ordenada los complejos preparativos para la división, por la cual se hace un reparto equitativo del material genético ya duplicado entre las dos células resultantes, manteniendo así la ploidía original de la célula. Implica que cada cromátida pueda migrar a un diferente polo, separación que es posible mediante el huso mitótico o acromático, estas fibras están formadas de microtúbulos y sus proteínas asociadas por un proceso de polimerización, que se asocian a las cromátides

permitiendo que cada una migren hacia los polos una vez que ambas se separan a nivel centromérico.

Esta polimerización puede ser inhibida experimentalmente y muchos tratamientos con sustancias como la colchicina, 8-hidroxiquinoleína, paradiclorobenceno, piretroides (22) y tratamiento por frío pueden efectivamente acumular células en metafase y cromosomas condensados durante la mitosis. La mitosis comprende una división nuclear y somática (citocinesis) lo que permite que los organelos pasen más o menos al azar a una u otra de las dos células.

El más importante carácter de la mitosis es que el número cromosómico permanece constante a través de sucesivas divisiones celulares, con una exacta distribución de cromosomas en las nuevas células formadas, genéticamente idénticas entre sí, manteniéndose la ploidía original de la célula.

Convencionalmente la mitosis se divide en: Profase, metafase, anafase, telofase, citocinesis y células hijas. (21)

Metafase, que es una de las más importantes para los estudios citogenéticos porque las características que conforman a los cromosomas son más visibles, como el tamaño de los brazos, la posición del centrómero y el tamaño que presenta cada uno de los cromosomas que integra el genoma de cada organismo; por estas características, es conveniente que las células que se analizan en preparaciones citogenéticas se encuentre en esta fase de división celular, en esta etapa los cromosomas se colocan en el plano ecuatorial de la célula a causa de que son jalados por el huso, estos son sujetados del centrómero, el huso está constituido de una gran cantidad de filamentos que están formados de microtúbulos que parten de cada centriolo, que se encuentran en los polos de la célula (22).

2.10 Duración del ciclo celular

La duración de los periodos G1, S, G2 y de la mitosis (M) depende del tipo de célula que se trate. Así, en células del epitelio humano la duración es de 8 horas, en otros tipos de células puede ser de varios días o incluso meses. También depende de las condiciones fisiológicas y de determinados factores y, en particular, la temperatura.

Un caso típico de duración de un ciclo celular es el de los cultivos de células HeLa en las que un ciclo celular dura 20 horas y cada fase tiene la siguiente duración:

G1..... 8 horas

S 6 horas

G2..... 5 horas

M..... 1 hora

Guillen Sánchez J.L. Ciclo celular. Mitótico. (11)

2.11 Importancia de determinar el nivel de ploidía

Sañudo, Ruiz Y Wendel mencionan que los niveles de ploidía son parte de un proceso evolutivo, el número de juegos cromosomas se determina por análisis citogenéticos. (25)

Hay cerca de 200 especies entre cultivares de *Solanum tuberosum* consideradas taxonómicamente distintas. Ellas van desde el nivel de las diploides ($2n = 2x = 24$ cromosomas) hasta el nivel de las exaploides ($2n = 6x = 72$). Todas estas especies existen solo en América: Crecen desde el sur de Estados Unidos, a través de México, América Central, los países andinos hasta el sur de Chile. Se encuentran desde el nivel del mar hasta más de 4,000 metros de altitud. Aunque la mayoría de las especies silvestres son tuberíferas, algunas no forman tubérculos.

Hay varios sistemas de clasificación de la papa, los cuales se basan principalmente en el número de series y especies reconocidas. Así, hay tres sistemas de clasificación de las variedades cultivadas de papa, los cuales reconocen 3, 8 ó 18 especies, según el grado de variación existente dentro de cada característica usada para distinguir una especie de la otra. De ellos, el que reconoce 8 especies cultivadas es el más universalmente utilizado.

La papa puede ser clasificada en niveles de ploidía. Ploidía es el número de juegos(x) de cromosomas presentes en una célula vegetativa (somática). Las células vegetativas normalmente contienen como mínimo dos juegos de cromosomas. El juego de cromosomas de la papa consta de dos cromosomas, es decir, $x = 12$. Las células somáticas de las especies cultivadas de papa pueden variar entre el nivel diploide y pentaploide. La expresión $2n$ simboliza el total de juegos de cromosomas y, en consecuencia, el número total de cromosomas en las células vegetativas en cualquier nivel de ploidía. (9)

2.12 Determinación de ploidía en células somáticas

El número básico de cromosomas en el género *Solanum* es doce ($x = 12$). En las papas silvestres y cultivadas existen diferentes números de ploidía, pueden ser $2n = 2x = 24$, $2n = 3x = 36$, $2n = 4x = 48$, $2n = 5x = 60$, $2n = 6x = 72$. El más importante y de gran significación en la evolución de las especies de la papa es el nivel tetraploide, que cubre un amplio rango de distribución desde la parte meridional de EE.UU. a la región austral y sur de Chile. El nivel de ploidía se determina contando el número de cromosomas en las células somáticas y/o células sexuales. Otro método rápido y directo es por citometría de flujo que cuantifica la cantidad de ADN nuclear, sin embargo necesita de un aparato llamado citómetro de flujo. (21)

2.13 Relación de ploidía con cambios estructurales en la planta

Al existir cambios en la cantidad del número de juegos cromosómicos que presentan las plantas, estas pueden alterar su ciclo de vida, como el número de semanas que tardan para llegar a florecer. Estos cambios pueden dar ventajas a las plantas, pudiendo tener mayor resistencia a sequías y heladas (6). Las plantas también presentan modificaciones en el tamaño de la hoja tanto el largo como ancho. El tamaño que presentan las células de varios tejidos de plantas tetraploides en comparación con las diploides, las observaciones realizadas determinaron que las plantas de

mayor ploidía presentan un mayor tamaño en las células de los tejidos en comparación con las plantas diploides. (5)

2.14 Métodos para el conteo de cromosomas en raíces de papa

Método de preparación de cromosomas en raíces de papa para una correcta determinación del número de cromosomas es necesario contar con técnicas citológicas que den buenos resultados, con un número aceptable de metafases contables, con cromosomas bien separados y coloreados, por lo que las muestras deberán ser colectadas en estado de metafase. Para la acumulación de cromosomas metafásicos varios pre-tratamientos químicos son usados y el mejor protocolo es descrito (21). No hay una técnica universal, cada laboratorio toma una o varias técnicas de acuerdo a las exigencias de cada cultivo. El conocer la ploidía de una especie es de gran ayuda en la determinación taxonómica y de gran importancia en los programas de mejoramiento. La papa no es una especie ideal para estudios citogenéticos. Los cromosomas somáticos de *S. tuberosum* miden de 1.0 a 3.5 μm , nuevas técnicas estudios de cromosomas en estadio de Paquiteno, permiten hoy la identificación de los cromosomas y la caracterización del genoma de la papa. (21)

En la actualidad se usan varias técnicas para estudiar los cromosomas en los tejidos de la plantas, pero no todas son apropiadas para plantas que tienen cromosomas pequeños como la papa.

La determinación del número cromosómico en células somáticas de papa se hace más frecuentemente en las puntas de las raíces que son tejidos meristemáticos en crecimiento activo. Sin embargo, se han descrito técnicas para el uso de tejidos de la corola con el mismo propósito. Esta última técnica presenta algunas dificultades; resulta más fácil el conteo de cromosomas en las puntas de las raíces. (7)

2.15 Polinización y fertilización

Cuando las anteras se tornan dehiscentes, los granos de polen son transferidos al estigma por los insectos o la mano del hombre. Una vez en contacto con el estigma, los granos de polen germinan formando el tubo polínico. En cada una de las microsporas haploides formadas durante la meiosis, el núcleo se divide por mitosis y desarrolla un grano de polen bicelular (gametofito masculino inmaduro). Una de las células se divide posteriormente otra vez habitualmente después del desarrollo del tubo polínico, dando como resultado tres células haploides por grano de polen: dos gametos masculinos (núcleo germinativo y núcleo espermático) y la célula generadora del tubo polínico. El tubo continúa creciendo y entra al óvulo a través del micrópilo. Los dos gametos son entonces liberados dentro de la sinérgida. El saco embrionario contiene 8 núcleos y cada uno con una dotación haploide de cromosomas. Los dos núcleos cerca al centro del saco embrionario son referidos como núcleos polares; la célula huevo u oosfera está situada cerca al micrópilo.

Finalmente un núcleo espermático entra en la célula huevo y el otro se une a los dos núcleos polares, este acontecimiento es llamado doble fertilización, entonces se forma un cigoto diploide, que luego desarrolla en embrión y la unión del otro núcleo espermático con dos núcleos polares, llamado fusión triple resulta en la formación del tejido nutritivo llamado endospermo ($3n$). Se

conoce a este proceso como doble fertilización, este es un proceso complejo, el embrión pasa por sus primeras etapas de desarrollo mientras se encuentra dentro del ovario de la flor, los integumentos se desarrollan en la cubierta de la semilla y el ovario mismo madura y se transforma en fruto. (21)

2.16 Fotosíntesis

La fotosíntesis se efectúa dentro de los cloroplastos de las hojas de las plantas, en el proceso de fotosíntesis, las células capturan una pequeña fracción de la energía de la luz solar y la almacenan como energía química en moléculas orgánicas complejas. Las reacciones de la fotosíntesis tienen lugar en dos etapas, en la primera etapa (las reacciones dependientes de la luz) o fase luminosa, la luz impacta en las moléculas de clorofila a que están empaquetadas en una ordenación especial, en las membranas tilacoidales. En la segunda etapa de la fotosíntesis (las reacciones independientes de la luz) o fase oscura, el ATO y el NADPH, formados durante la primera etapa, se usan para reducir el dióxido de carbono a un glúcido sencillo. Así pues, la energía química, temporalmente almacenada en las moléculas de ATP y NADPH, se transfiere a moléculas diseñadas para el transporte y el almacenaje en las células del cuerpo de la planta. (2)

2.17 Cloroplastos

En las plantas, los cloroplastos se encuentran presentes en todas las células clorénquimáticas del mesófilo y de la periferia de los tallos herbáceos. Los cloroplastos se orientan hacia la luz, los millones de moléculas de pigmento pueden orientarse simultáneamente para optimizar la recepción, como si fueran pequeñas antenas electromagnéticas. (2)

2.18 Conteo del número de cloroplastos en células guarda de papa

Aunque no es una técnica para determinar la exacta ploidía de un genotipo, cuando manejamos una gran cantidad de material nos permite discriminar el grupo diploide de los otros grupos. Por ejemplo cuando queremos seleccionar haploides ($2n=2\times=24$). (21)

2.19 Estomas

Los estomas son aberturas o poros en la epidermis rodeada de dos células especializadas, denominadas células guardianas u oclusivas, el poro se continúa internamente como una cámara subestomática, la cual se comunica con el espacio intercelular del mesófilo, los estomas pueden encontrarse tanto en hojas, rizomas, plantas acuáticas, pétalos, estambres y gineceo. La mayor parte de la transpiración se hace por los estomas, aun cuando el poro (ostíolo) está cerrado, de tamaño aproximado de orificio de $0.2\ \mu\text{m}$. El número de estomas por hoja varía mucho de una especie a otra. La luz es un factor que influye en el mecanismo de cierre y apertura de los estomas en condiciones normales de humedad, temperatura y viento. Los cloroplastos están rodeados por una membrana y poseen formaciones donde se encuentra la clorofila, distribuida en el estroma, esta arquitectura le permite a la clorofila utilizar la energía lumínica, absorbiendo

fotones. Los cloroplastos de los estomas tienen una respuesta específica a la luz azul, con un espectro de acción semejante a la apertura de estomas, por lo que se piensa que interviene en la traducción sensorial. La función principal de los estomas es regular la pérdida de agua y el ingreso de dióxido de carbono (CO₂), pero la función esencial es el mantenimiento de la homeostasis de la planta, es decir la regulación del medio interno mientras interactúa con el medio ambiente (5).

2.20 Relación de ploidía y características de los estomas

Las modificaciones de los niveles de ploidía presentan una relación con los estomas; si se modifica el número de juegos de cromosomas, estos pueden modificar las características como el largo y ancho de los estomas, así como, la densidad estomática de manera positiva o negativa (27) y la cantidad de cloroplastos que presentan las células guardas de los estomas (21). Simmonds realizó un estudio citogenético para determinar si existía una relación del nivel de ploidía con el tamaño y densidad de los estomas. (27) Krishnaswami y Andal, encontró que en las células oclusivas el número de cloroplastos efectivamente distingue el nivel de ploidía. Señaló que el nivel de ploidía tuvo una influencia en el número de cloroplastos. (19)

2.21 Hormonas vegetales

El desarrollo normal de una planta depende de la interacción de factores externos; luz, nutrientes, agua y temperatura, entre otros, e internos: hormonas. Las hormonas se han definido como compuestos naturales que poseen la propiedad de regular procesos fisiológicos que permiten a la planta responder correctamente a su ambiente, los fisiólogos botánicos han identificado cinco clases principales de hormonas vegetales: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno y ácido abscísico. Cada hormona puede suscitar diversas respuestas de las células de la planta, dependiendo de factores como el tipo de célula blanco, la etapa de desarrollo de la planta, la concentración de la hormona y la presencia de otras hormonas. Las auxinas; aunque se encuentran en toda la planta, se encuentran en altas concentraciones en las regiones meristemáticas, las cuales están en crecimiento activo; como crecimiento y ramificación de raíces, desarrollo de tejidos vasculares. (2).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación Geográfica

La investigación se llevó a cabo en uno de los invernaderos del programa de hortalizas, y la parte práctica se determinó en el laboratorio de biología molecular, del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas -ICTA-; Centro de Investigación del Altiplano Occidental. -CIALO-.

El -ICTA- se encuentra ubicado en el municipio de Olintepeque, departamento de Quetzaltenango a 203.5 km. De la ciudad Capital, a 3.5 km. De la cabecera departamental de Quetzaltenango, y a 2 km. De la cabecera municipal de Olintepeque. Las coordenadas son las siguientes: Latitud Norte $14^{\circ} 52' 14''$ Longitud Oeste $91^{\circ} 30' 52''$; se encuentra a una altura de 2380 msnm. Tiene una extensión territorial de 21.02 Ha, divididas en 7.81 Ha para instalaciones y 13.21 Ha para campos de investigación y producción tanto agrícolas como pecuaria.(18).

3.2 Descripción de la investigación

Se preparó un invernadero para colocar el ensayo, distribuido en el diseño de cuadrado latino. Se prepararon 27 macetas con sustrato peatmoss.

3.2.1 Localización.

El ensayo fue distribuido dentro de un invernadero del programa de hortalizas, y la parte práctica se determinó en el laboratorio de biología molecular, -ICTA-, -CIALO-. Olintepeque, Quetzaltenango.

3.2.2 Obtención del material

Se utilizaron tubérculos de papa *Solanum tuberosum* de la variedad comercial LOMAN sembrando un tubérculo por maceta con sustrato peatmoss para la brotación y producción de raíces de la planta.

3.2.3 Determinación de la altura y la hora para la extracción de ápices radiculares.

Se determinaron tres diferentes alturas de plántula y tres horas diferentes para coleccionar ápices radiculares, y realizar el conteo de células en actividad mitótica, (metafase) en un campo microscópico de 100X. Como se muestra a continuación.

TABLA 1 Determinación de la altura y la hora para la extracción de ápices radiculares.

RANGO DE ALTURA DE LA PLANTA	9:00 AM	10:00 AM	11:00 AM
0 a 5 cm.	3 plantas	3 plantas	3 plantas
5 a 10 cm.	3 plantas	3 plantas	3 plantas
10 a 15 cm.	3 plantas	3 plantas	3 plantas

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

3.2.4 Prefijación

Usando una pinza de punta muy fina se colectaron raíces de aproximadamente 10 mm y se colocaron en “vials”. Se le aplicó 8-hidroxiquinolina 0.002M. Por 24hrs. Para una mejor prefijación.

3.2.5 Fijación

Para la fijación de los cromosomas se utilizó la solución de Farmer (etanol al 95% más ácido propiónico al 45% en proporción 3:1) con un tiempo de 3 hrs., colocando las raíces en cajas Petri, cubriéndolas con la solución.

3.2.6 Hidrólisis

Posteriormente se trasladaron las raíces a otra caja Petri y se colocó en HCl al 1N a 60°C durante 10 minutos.

3.2.7 Tinción

Para la coloración de los cromosomas se utilizó Lacto-Propiónico-Orceína por un máximo de una hora en oscuridad.

3.2.8 Aplastamiento

Después del proceso de coloración el “squash” convencional se realizó entre el porta y cubreobjetos, para así dispersar los cromosomas en la placa del montaje.

3.2.9 Observación

La muestra preparada se analizó bajo un microscopio óptico, inicialmente a un aumento de 10X para buscar células, luego se fue aumentando 40X, para realizar el conteo de cromosomas.

3.3 Diseño Experimental

Se usó un diseño experimental de bloques irrestricto al azar, en parcelas divididas con nueve tratamientos y tres repeticiones. Este diseño es uno de los más sencillos y flexibles; se le ha catalogado como exclusivo de invernaderos y laboratorios por las condiciones homogéneas que estos presentan.

3.4 Modelo Estadístico

Diseño Bloques Irrestricto al azar:

$$Y_i = \mu + T_i + E_i$$

TABLA 2 Distribución de los tratamientos.

T1 - R1	T1 - R2	T1 - R3	T5 - R1	T5 - R2	T5 - R3	T9 - R1	T9 - R2	T9 - R3
T4 - R1	T4 - R2	T4 - R3	T8 - R1	T8 - R2	T8 - R3	T6 - R1	T6 - R2	T6 - R3
T7 - R1	T7 - R2	T7 - R3	T2 - R1	T2 - R2	T2 - R3	T3 - R1	T3 - R2	T3 - R3

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

3.5 Descripción de los tratamientos

Los tratamientos están en función a la altura de la planta con tres diferentes horas. Para la variedad comercial de semilla de papa LOMAN. Como se presenta en la siguiente tabla.

TABLA 3 Descripción de los tratamientos.

NÚMERO DE TRATAMIENTO	ALTURA DE LA PLANTA	CORTE DE APICES RADICULARES	CORTE DE HOJA
T1	0 a 5 cm.	09:00 am.	09:00 am.
T2	0 a 5 cm.	10:00 am.	10:00 am.
T3	0 a 5 cm.	11:00 am.	11:00 am.
T4	5 a 10cm.	09:00 am.	09:00 am.
T5	5 a 10cm.	10:00 am.	10:00 am.
T6	5 a 10cm.	11:00 am.	11:00 am.
T7	10 a 15cm.	09:00 am.	09:00 am.
T8	10 a 15cm.	10:00 am.	10:00 am.
T9	10 a 15cm.	11:00 am.	11:00 am.

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015.

3.6 Determinación de la hora de corte de raíces

Esta especie cuenta con ápices radiculares muy pequeños y delicados por lo que se retiró el sustrato de la raíz con el debido cuidado para no dañarlas. Con las raíces ya extraídas, utilizamos 9 tratamientos. Para la variedad de semilla. (LOMAN). Como se presenta en la siguiente tabla.

TABLA 4 Determinación de la hora de corte de raíces.

ALTURA DE LA PLANTA	9:00 AM	10:00 AM	11:00 AM
0 a 5 cm.	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
5 a 10 cm.	Tratamiento 4	Tratamiento 5	Tratamiento 6
10 a 15 cm.	Tratamiento 7	Tratamiento 8	Tratamiento 9

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015.

3.7 Unidad experimental

El área experimental estuvo formada por 27 macetas con un diámetro de 14 cm y una altura de 13 cm En cada maceta se sembró un tubérculo de *Solanum tuberosum* de la variedad comercial Loman. De las cuales se realizó una extracción de 8 a 10 ápices radiculares por plántula.

3.8 Variables en estudio

Para el estudio de las variables. Se tomó información de las siguientes unidades experimentales.

3.8.1 Altura de planta

Para evaluar este parámetro se utilizó una regla en centímetros, tomado la altura desde la base de la planta al ápice terminal de cada una de las plantas, se extrajo un promedio de 5 a 8 raíces por planta.

3.8.2 Hora de corte de raíz

Para evaluar este parámetro se utilizó un reloj en tiempo real UTC (Tiempo Universal Coordinado). En este caso se cortaron de 5 a 8 raíces por planta a las 9:00am, 10:00am y 11:00am.

3.8.3 Número de cloroplastos presentes en las células guarda

Para evaluar este parámetro se colectaron hojas terminales de plántulas de papa, a las tres alturas (0-5cm) (5-10cm) (10-15cm) con las tres horas 9:00am 10:00am 11:00am. Utilizando una pinza fina se obtuvo el tejido epidérmico del envés de la hoja; para realizar el procedimiento correspondiente.

3.9 Conteo de cloroplastos en células guarda

3.9.1 Toma de la muestra

Se colectaron hojas ó folíolos terminales de una misma planta y se colocaron en una placa Petri con papel toalla o filtro humedecido con agua.

3.9.2 Procedimiento

Con la ayuda de una pinza fina se obtuvo el tejido epidérmico del envés de la hoja, de la zona próxima a las nervaduras, e inmediatamente se colocó sobre un portaobjetos donde previamente se le aplicó dos gotas de solución de KI - I y luego muy suavemente se colocó encima de la muestra otras dos gotas de KI - I, se cubrió suavemente con un cubre-objeto.

3.9.3 Observación

Se examinó la preparación bajo el microscopio óptico, a un aumento de 10 X, 20 X ó 40 X. El conteo de cloroplastos se realizó solo en una de las células guarda de los estomas. El número promedio de cloroplastos nos dio una indicación de nivel de ploidía, así para una ploidía 2x en papa, el promedio es de 5 - 8 cloroplastos por célula guarda, contajes mayores a 9 nos indica un nivel más alto de ploidía. Es aconsejable por lo menos obtener el promedio en 10 células guarda.
(9)

3.10 Manejo agronómico

3.10.1 Llenado de macetas

Se llenaron 27 macetas con un volumen de 500ml cada una, con el sustrato peatmoss.

3.10.2 Siembra

Se sembró una semilla de papa LOMAN en cada maceta. Distribuidas en 3 épocas para tener uniformidad en las plantas.

3.10.3 Fertilización

Se le aplicó 12 gramos de fertilizante 15-15-15 en cada una de las macetas ya con la plantita ya emergidas.

3.10.4 Riego

Las macetas se regaron dos veces al día, aplicando 200ml de agua para cada una.

3.10.5 Toma de datos

Se tomaron tres lecturas midiendo cada planta desde el cuello hasta el ápice apical:

- a) Cuando la planta tenga un rango de altura de 0-5 cm.
- b) Cuando la planta tenga un rango de altura de 5-10 cm.
- c) Cuando la planta tenga un rango de altura de 10-15 cm.

3.11 Descripción de los análisis

3.11.1 Análisis mediante ecuaciones propuestas por Poggio y colaboradores

Los índices de fases parciales (IF) y el índice mitótico parcial (IM) se calcularon mediante las ecuaciones propuestas por Poggio y colaboradores. (6)

IF= número de células en cada fase/número total de células x 100.

p= Profase; m= metafase; a= anafase; t= telofase.

IM= IFp+IFm+IFa+IFt.

El índice de fases totales (IFt) tiene en cuenta el promedio de los porcentajes de cada fase y el número de horas empleadas en el estudio; el índice mitótico total (IMt) se obtiene de la sumatoria de los índices de fase totales.

IFt (%) = IF(%)/número de horas.

IMt (%) = IFp+IFm+IFa+IFt.

La obtención de cromosomas metafásicos, de cada brote enraizado se tomaron de 5 a 8 ápices en crecimiento activo. Se le aplicó 8-hidroxiquinoleína 0.002M, como inhibidor del uso mitótico. (7)

La efectividad del pretratamiento se determinó mediante el índice de metafases (IMe).

$$\text{IMe} = \frac{\# \text{ total de células en división}}{\# \text{ total de células en metafase}} \times 100$$

3.11.2 Análisis de varianza

Las variables se tabularon en base a un análisis de varianza al 5% de probabilidad, esto con la finalidad de conocer si estadísticamente existe alguna significancia entre los tratamientos.

3.11.3 Análisis de medias

Utilizando el programa de InfoStat se realizó el análisis de varianza (ANDEVA), al observar significancia se procedió a realizar la prueba de medias a través del método LSD de Fisher.

3.12 Recursos

3.12.1 Físicos

- Instalaciones de laboratorio de biología molecular e invernadero de hortalizas del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas
- Macetas
- Peatmoss
- Semilla de papa LOMAN.
- Equipo de laboratorio (microscopio, thermomixer compacto, refrigeradora, mechero)
- Insumos de laboratorio (cajas petri, porta objetos, cubre objetos, bisturíes, hojas de bisturíes, papel mayordomo, tijeras, reactivos, guantes, bata, mascarilla)
- Equipo de cómputo. (software para microscopio)
- Fertilización química.
- Libretas de campo.
- Cámara fotográfica.
- Papelería y útiles de oficina.

3.12.2 Humanos

- Asesora Inga. Agrónoma Glenda Pérez
- Supervisor EPSA. Ing. Agr. Carlos Gutierrez
- Terna Evaluadora: Inga. Agrónoma Dafne Camas
- Ing. Agr. Jorge Morales
- Q.F. Roberto Méndez
- Ing. Agr. Floridalma Jacobs
- Tesista. Paulina Castillo

3.12.3 Económicos

- Todos los gastos de esta investigación los cubrirá el Instituto de Ciencia y Tecnologías Agrícolas -ICTA-.

TABLA 5 Recursos económicos de la investigación.

No.	Actividad	Unidad	Cantidad	Precio Unitario Q.	Total Q.	
1	Materiales					
	macetas	unidad	27	Q. 5.00	Q. 135.00	
	peatmoss	costal	1	Q. 325.00	Q. 325.00	
	semilla de papa	unidad	27	Q. 5.00	Q. 135.00	
	fertilizante	1 libra (15-15-15)	1 libra	Q. 2.50	Q. 2.50	
2	Equipo de laboratorio					
	microscopio	máquina	1	Q. 3,500.00	Q. 3,500.00	
	thermomixer compacto	máquina	1	Q. 3,500.00	Q. 3,500.00	
	refrigeradora	máquina	1	Q. 500.00	Q. 500.00	
	mechero	máquina	1	Q. 200.00	Q. 200.00	
3	Insumos de laboratorio					
	cajas petri	unidad	10	Q. 35.00	Q. 350.00	
	porta objetos	caja	1	Q. 100.00	Q. 100.00	
	cuadre objetos	caja	1	Q. 50.00	Q. 50.00	
	hojas de bisturíes	caja	1	Q. 75.00	Q. 75.00	
	bisturíes	unidad	1	Q. 35.00	Q. 35.00	
	papel mayordomo	rollo	1	Q. 25.00	Q. 25.00	
	tijeras	unidad	1	Q. 10.00	Q. 10.00	
	guantes	caja	1	Q. 65.00	Q. 65.00	
	maskarilla	unidad	10	Q. 3.50	Q. 35.00	
	bata	unidad	1	Q. 100.00	Q. 100.00	
4	Reactivos					
	8-hidroxiquinoleína		1	Q. 600.00	Q. 600.00	
	solución de Farmer		1	Q. 300.00	Q. 300.00	
	HCl		1	Q. 300.00	Q. 300.00	
	Lacto-Propiónico-Orceína		1	Q. 800.00	Q. 800.00	
5	Equipo de computo					
	computadora	máquina	horas	Q. 8.00	Q. 400.00	
	software para microscopio	máquina	1	Q. 500.00	Q. 500.00	
	cámara fotográfica	máquina	horas	Q. 1,000.00	Q. 1,000.00	
	internet	máquina	paquete	Q. 150.00	Q. 150.00	
6	Tabulación de datos					
	computadora	máquina	horas	Q. 8.00	Q. 400.00	
	fotocopias	máquina	copias	Q. 0.25	Q. 25.00	
	internet	máquina	paquete	Q. 150.00	Q. 150.00	
	impresiones	hojas	100	Q. 3.00	Q. 300.00	
7	Movilización		galones	75	Q. 20.00	Q. 1,500.00
8	Jornales		días	250	Q. 50.00	Q. 12,500.00
					Total	Q. 28,067.50

nte: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015.

4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis de varianza

Se presentan los resultados obtenidos de la investigación en la que se realizó el conteo de células en estado de metafase para la visualización de cromosomas de muestras radicales de 27 plántulas de la especie *Solanum tuberosum*, de la variedad comercial Loman.

Cuadro 1. Análisis de varianza del conteo de células en estado metafásico de

F.V.	SC	Gl	CM	F calculada	p- valor 5%	Significancia
Modelo.	68.92	8	8.62	72.26	<0.0001	
Altura	42.88	2	21.44	179.81	<0.0001	*
Hora	1.65	2	0.82	6.9	0.006	*
Altura/Hora	24.4	4	6.1	51.17	<0.0001	*
Error	2.15	18	0.12			
Total	71.07	26				
C.V. %	5.97					

muestras radicales de *Solanum tuberosum*.

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015.

*...Significancia al 5%.

NS= No Significativo.

Se realizó el análisis de varianza en el programa de InfoStat (2008); el cuadro 1 estableció que existe una diferencia estadística entre los tratamientos evaluados sobre las variables en estudio altura de la planta y hora de colecta de raíz de plántulas de *Solanum tuberosum* (Loman). Podemos observar que el conteo de células en estado metafásico para la variable altura de plántula; arrojó un valor de 0.0001%; y para la variable hora de colecta de ápice radicular; arrojó un valor de 0.006%. Así como en la interacción de los mismos que nos dio un valor de 0.0001%. Los tres parámetros son estadísticamente significantes ya que son valores inferiores al nivel de probabilidad, por lo consiguiente se procedió a realizar la comparación de medias con el método de LSD de Fisher. Se obtuvo un coeficiente de variación de 5.97%, que está entre los parámetros aceptables para esta investigación. Según (Larreal et. al., 2007).

Cuadro 2. Medias del test LSD de Fisher para la variable altura de plántula de *Solanum tuberosum*.

Altura	Medias	n	E.E.	Grupo LSD Fisher		
15	7.45	9	0.12	A		
10	5.53	9	0.12		B	
5	4.39	9	0.12			C

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015.

Para la variable altura de plántula, el cuadro 2 indica que la altura óptima de plántulas para la observación de una mayor cantidad de división celular mitótica, es de 15 centímetros para esta variedad. Debido a que el crecimiento de los ápices radiculares se encuentra en su estadio óptimo de crecimiento y desarrollo.

Cuadro 3. Medias del test LSD de Fisher para la variable colecta de ápice radicular de plántulas de *Solanum tuberosum*.

Hora	Medias	n	E.E.	Grupo LSD Fisher	
9	6.07	9	0.12	A	
10	5.82	9	0.12	A	
11	5.47	9	0.12		B

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Para la variable hora de coleta de ápice radicular, en el cuadro 3 observamos que estadísticamente el momento del día en el cual las células están en constante división se encuentra entre 9:00 y 10:00 am. Lo que determina que la hora mitótica oscila en las primeras horas de la mañana hasta las 11:00 am. Aproximadamente, lo que se confirma en la comparación de medias para la variable hora del día. (22)

Cuadro 4. Comparación de medias para la interacción de las dos variables (altura de planta y hora de corte de raíz) para un mayor número de células en etapa metafásica para el conteo de cromosomas en ápices radiculares de *Solanumtuberosum*.

No. Tratamiento	Altura	Hora	Medias	GRUPO LSD Fisher						
T7	15	9	8.73	A						
T9	15	11	7.84		B					
T5	10	10	6.8			C				
T8	15	10	5.77				D			
T4	10	9	5.64				D			
T2	5	10	4.89					E		
T3	5	11	4.43					E	F	
T6	10	11	4.15						F	
T1	5	9	3.85						F	

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

En el cuadro 4 podemos observar que se obtuvieron 6 grupos estadísticamente diferentes en la interacción de las variables, por lo que se recomienda el grupo A correspondiente al T7 con una media de 8.73, donde presenta un mayor número de etapa metafásica para el conteo de cromosomas; en el cuál se realizaron colectas de ápices radiculares a las 9:00am. Seguido del grupo B correspondiente al T9 con una media de 7.84 en donde la colecta de ápices radiculares se realizó a las 11:00am. 15 centímetros es decir que la altura óptima para colectar raíces en el cultivar de Loman. Pero en relación a la hora de corte de raíces, según Talledo D. y Escobar C. indican que el ciclo celular radicular en la especie *Solanum* puede ser regular o irregular, en un periodo de 24 horas y la mitosis, tiene una duración de 1 hora aproximadamente lo que confirman los resultados obtenidos en el presente estudio en donde a las 9:00am se observó una mayor división mitótica, presentado una disminución a la 10:00am y ésta; volvió a incrementarse a las 11:00am. Según imagen 12 de anexos. Dónde se observan los picos de IM, por hora de colecta de raíces. El ciclo celular en las plantas se encuentra influida por el fotoperiodo, altitud donde se siembra el cultivo lo que causo que se presentara un ciclo irregular en el cultivar de papa evaluado (29).

Los tratamientos con menor incidencia de células en etapa de metafase son los grupos E y F correspondientes a los tratamientos (T2, T3, T6 y T1). Estos con plántulas de 5 centímetros de altura en su mayoría; puede ser explicado por que las raíces de las plantas no tenían un estadio juvenil adecuado y el umbral de absorción de agua en las raíces fue poca, así como las reacciones dependientes de la luz en las hojas y la baja concentración de hormonas vegetales principalmente las auxinas que son las encargadas del alargamiento de las células, crecimiento y ramificación de raíces. Según la revista Scientia et Technica Año XVII, No 46, Diciembre de 2010 Universidad Tecnológica de Pereira. Lo que causo una baja división celular mitótica.

4.2 Discusión

4.2.1 Observación y conteo de cromosomas

Los cromosomas de la célula de un organismo son más evidentes cuando ésta se encuentra en división mitótica, de tal forma que se deben utilizar tejidos meristemáticos que se caracterizan por encontrarse en constante mitosis (31).

Sin embargo un gran obstáculo para observar los cromosomas en *Solanum tuberosum*, así como en otros géneros como *Amaranthus* es que las especies tienden a tener raíces delicadas y muy pequeñas, por lo que se debe tener el debido cuidado al momento de colectar los ápices radiculares de la plántula. Y de este modo asegurar la disponibilidad del material vegetal.

El manual técnico de biología reproductiva y citogenética de la papa. Sirvió de protocolo para realizar las prácticas correspondientes que facilitaron la investigación. (21)

El momento del día en el cual las células se multiplican con mayor rapidez varía de una especie a otra, pero por lo general, la hora mitótica se encuentra en las horas de la mañana hasta aproximadamente las 11:00 am, lo que concuerda con lo obtenido en esta investigación. (22)

Debido al pequeño tamaño y la gran cantidad de cromosomas que presenta este material, y siguiendo un protocolo ya establecido para el conteo cromosómico. Se obtuvo el número promedio con respecto a la observación al microscopio que la variedad Loman cuenta con $2n = 36$ cromosomas por lo que el nivel de ploidía es triploide.

4.2.2 Observación y conteo de cloroplastos

Aunque no es considerada una técnica exacta para la determinación de la ploidía de un genotipo de papa, el conteo de cloroplastos en las células guarda de los estomas nos permite distinguir el grupo diploide de los otros grupos (Huamán, 1995).

El conteo de cloroplastos se realiza en una de las dos células guarda de los estomas. El número promedio de cloroplastos nos da una indicación del nivel de ploidía.

Cuadro 5. Promedio de No. De cloroplastos por células guarda de *Solanum tuberosum*.

Promedio del No. de cloroplastos por célula guarda	posible ploidía	Promedio del No. de cloroplastos por célula guarda <i>Solanum tuberosum</i>	
		Altura de la plántula	No. De cloroplastos
7 a 8	2X	5 cm.	11.8
9 a 11	3X	10 cm.	11.4
12 a 14	4X	15 cm.	10.8
15 a 16	5X	Fuente: Fase de Campo y Gabinete. - ICTA- -CIALO-	
Según Huamán, 1995			

Se realizaron las técnicas correspondientes para el conteo de cloroplastos en plántulas del cultivar Loman, el cuadro 4 a establecido que al realizar la colecta de hojas en plántulas de papa a las tres alturas propuestas; la especie se encuentra en el promedio según Huamán de 9 a 11 = 3X por lo tanto no existe diferencia de conteo de cloroplastos en cuanto a la variable altura de la planta y es muy importante tomar la hoja de la parte media de la planta por lo que se determinó que existe una relación con el conteo de los cromosomas de la variedad Loman. (17)

5. CONCLUSIONES

Se estandarizó la técnica de citología para la observación de la división celular mitótica, y poder realizar el conteo de cromosomas en células somáticas de la variedad Loman. Este cultivo exhibió una dotación de 36 cromosomas, por lo que es considerada triploide. (3X).

Se realizaron los estudios correspondientes para la adaptación de la técnica de citología en plántulas de *Solanum tuberosum* de la variedad comercial Loman; apoyando con esta investigación al programa de hortalizas en mejoramiento genético en el -ICTA-.

Se estableció que la prefijación del material para la observación de una mayor división celular mitótica en el cultivar Loman, la mejor hora de colecta de ápices radiculares es a las 9:00 de la mañana.

Se estableció que 15 centímetros es la altura óptima para realizar la colecta de ápices radiculares y poder observar un mayor estadio de división mitótica en Loman.

Se aceptan las hipótesis alternativas 1 y 2. Debido a que el tratamiento T7 resultó tener un mayor porcentaje de división celular mitótica para el estudio de la investigación.

En el estudio del cultivar Loman se ha determinado que el nivel de ploidía guarda una relación con el número de cloroplastos en los estomas de las células guarda. Por lo que se acepta la hipótesis alternativa 3.

6. RECOMENDACIONES

Para la implementación de programas de mejoramiento genético de un cultivar, se recomienda realizar una revisión citogenética para conocer el nivel de ploidía del material.

En el estudio de otros cultivares se recomienda establecer un protocolo, utilizando esta metodología de base; esta investigación adaptó un protocolo para la variedad Loman.

Para estudios en especies de *Solanum*, se recomienda utilizar plántulas de 15 centímetros ya que fue la altura óptima donde se presentó un mayor número de división celular mitótica.

7. BIBLIOGRAFIA

- 1- ALDABE LUIS & DOGLIOTTI SANTIAGO Curso de Fisiología de los cultivos, Bases fisiológicas del crecimiento y desarrollo del cultivo de papa. en:http://www.fagro.edu.uy/~fisveg/docencia/curso%20fisiologi%20cultivos/materiales%20teoricos/Repartido_Fisiologia_Papa.pdf Consulta 28 de abril de 2015.
- 2- AUDESIRK TERESA, AUDESIRK GERALD & BYERS BRUCE E., Biología “La vida en la tierra” Sexta edición.
- 3- BUKASOV, S. 1939. The Origin of Potato Species. Phycis (Argentina) 18: 41-46.
- 4- BUKASOV, S.M. 1971. Cultivated potato species. pp. 5-40. En: Bukasov, S.M. (ed.). Flora of cultivated plants. Vol. IX . Kolos, Leningrad.
- 5- CASTAÑEDA NAVA JOSÉ JUVENCIO, 2012, Análisis citogenético y estomático para determinar los niveles de ploidía en camote de cerro. Zapopan. Jalisco. (4)
- 6- CHOQUE E., R. ESPINOZA, X. CADIMA, J. ZEBALLOS Y J. GABRIEL. 2007. Resistencia a helada en germoplasma de papa nativa de Bolivia. Rev. ALAP. 14(1): 24-32.
- 7- Consultado el 28 de abril de 2015, disponible en <http://www.deguate.com/artman/publish/produccion-guatemala/produccion-de-papa-en-guatemala.shtml#.VQlim3yUeSo> (5)
- 8- Consultado el 28 de abril de 2015, disponible en <http://cipotato.org/wp-content/uploads/publication%20files/research%20guides/ResGuide47719.pdf>
- 9- Consultado el 29 de abril de 2015, disponible en <http://www.papaslatinas.org/v1n1p104.pdf>
- 10- Consultado el 13 de junio de 2016, disponible en <http://agexporthoy.export.com.gt/2013/07/productores-de-papa-se-organizan-para-exportar/>
- 11- Consultado el 21 de junio de 2016, disponible en <http://www.iespando.com/web/departamentos/biogeo/web/departamento/2BCH/PDFs/18Mitosi.pdf>

- 12- DE PAZ, R. 2009. Diseños y análisis de experimentos agrícolas. Segunda edición. Quetgo. Guatemala. (3)
- 13- FAO. 2010. FAOSTAT. El mundo de la papa. En: <http://www.potato2008.org/es/mundo>; consultado 29 de abril de 2016.
- 14- GRUN, P. 1990. The evolution of cultivated potatoes. *Econ. Bot.* 44, Supl. 3, 39-55.
- 15- HAWKES, J.G. 1990. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. Belhaven Press, London.
- 16- HEYWOOD, V.H. 1968. Cromosomas, Taxonomía y evolución. En: *Taxonomía Vegetal*. Madrid. ed. Alhambra, S.A. p. 82-89. (10)
- 17- HUAMÁN, Z, 1995. Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Guía de Investigación CIP 10. Centro Internacional de la papa (CIP), Lima, Perú. 18p
- 18- INSIVUMEH. 1995. Reporte climatológico. Estación meteorológica, Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango. Guatemala.
- 19- KRISHNASWAMI R Y R ANDAL. 1977. Stomatal chloroplast number in diploids and polyploids of *Gossypium*. *India Acad. Sci.* 87:109-112
- 20- RIVERA FRANCO, J. 2002. Manual del cultivo de la papa en Guatemala (*Solanum tuberosum*). -ICTA-. Quetzaltenango. Guatemala. Consultado el 21 de febrero de 2015 disponible en <http://www.icta.gob.gt/hortalizas/cultivoPapa3.pdf>
- 21- ORRILLO M. Y M. BONIERBALE. 2009. Manual técnico biología reproductiva y citogenética de la papa. Red. ALAP/CIP. p.22
- 22- ORDOÑEZ B & BONIERBALE M. 2015. Manual de Biología reproductiva y citogenética de la papa. Segunda edición. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 70p.
- 23- POGGIO L, MUDRY MD, PAPESCHI AG, MOLA LM, GREIZERTEIN E. Citogenética. Argentina: Universidad de Buenos Aires. Departamento de Ecología, genética y evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; 2006.
- 24- Propagación vegetativa, consultado el 27 de abril de 2015. Disponible en http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_6.htm

- 25- SAÑUDO A. Y M. RUIZ. 1975. Sobre la naturaleza autoploide de algunas plantas silvestres. *Anal. Inst. Bot. Cav.* 32(2):633-648.
- 26- SOLÍS V. Y FERNÁNDEZ A. 2005. Evidencias citológicas del origen autopoliiploide del complejo *Turnera sidoides* L. (*Turneraceae*). *UNNE. B*:22
- 27- SIMMONDS N. 1948. Genetical and cytological studies of *Musa* x. estomatal size and plant vigour in relation to polyploidy. *J. Genet.* 49:57-68.
- 28- SPOONER, D.M. Y W.L.A. HETTERSCHEID. 2005. Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Zerega y H. Cross (eds.). *Darwins harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops.* Columbia University Press, New York, NY.
- 29- TALLEDO, D.; C. ESCOBAR; V. ALLEMAN. 1993. Introducción al análisis cromosómico en vegetales. Lima, Universidad Ricardo Palma. 141 p. (21)
- 30- VALDÉS REINIER Y GUIROLA VICTOR, Caracterización Botánica y Agromorfológica del cultivo de la papa. Consultado el 28 abril de 2015 disponible en <http://www.monografias.com/trabajos93/cultivo-papa/cultivo-papa.shtml>
- 31- VALLADOLID A, BLAS R, GONZÁLES R. 2004. Introducción al recuento de cromosomas somáticos en raíces andinas. En: Seminario J. (ed.) *Raíces Andinas. Contribuciones al conocimiento y la Capacitación. Serie: Conservación y Uso de la Biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigaciones para el desarrollo (1993-2003).* N°6. C.I.P. agencia suiza para el desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú. pp. 96-99.
- 32- WENDEL J. 2000. Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* 42: 225-249.

8. GLOSARIO

Anafase: Fase de la mitosis en la que las cromátidas de cada cromosoma se separan y se desplazan hacia polos opuestos; fases similares de la meiosis en las cuales las cromátidas o los pares de cromosomas se separan.

Ápice: Porción terminal de una raíz o de un vástago en el que se localiza el meristemo.

Citología: es una ciencia que según su etimología (Cito: proveniente del griego que significa Célula) estudia todo lo relacionado con el comportamiento de los seres vivos, en especial en los seres humanos, ya que es en nosotros en quienes se han desarrollado mas funciones, aplicaciones y retos.

Células guarda: Par de células epidérmicas especializadas que bordean un poro o estoma; los cambios en la turgencia del par de células oclusivas provocan la apertura y el cierre del poro. También denominadas células oclusivas.

Células somáticas: Todas las células de un cuerpo excepto los gametos y las células a partir de las cuales éstos se desarrollan.

Citocinesis: División del citoplasma celular para formar dos células hijas. También denominado citoquinesis.

Cloroplastos: Orgánulo citoplasmático característico de los tejidos fotosintéticos, que son los que le dan el típico color verde. Lugar donde se localizan clorofilas; lugar donde tiene lugar la fotosíntesis. Los cloroplastos se encuentran en todas las células eucarióticas fotosintéticas, desde las plantas superiores a las algas unicelulares y pluricelulares.

Clon: Población de células o individuos derivados por división asexual de una única célula o individuo; uno de los miembros de dicha población.

Cromosomas: Orgánulo portador de los genes. Los cromosomas de los organismos eucariotas se visualizan como hebras o bastones de cromatina, la cual aparece en forma contraída durante la mitosis y la meiosis y se encuentran incluidos en un núcleo; los cromosomas de las bacterias están formados tan sólo por un círculo cerrado de DNA.

Diploide: Que tiene dos juegos de cromosomas; el número cromosómico $2n$ (diploide) es característico de la generación del esporófito.

División celular: División de una célula y de su contenido en dos partes aproximadamente iguales.

Estolones: Tallo que crece horizontalmente a lo largo de la superficie del suelo y que puede formar raíces adventicias, como por ejemplo en las plantas de fresa.

Estomas: Pequeña apertura rodeada de células oclusivas y situada en la epidermis de las hojas y de los tallos a través de donde circulan los gases y se pierde el agua en forma de vapor; también usado para referirse a todo el aparato estomático -las células oclusivas más el poro que rodean.

Foliolos: Cada una de las piezas de una hoja compuesta.

Haploide: Poseedor de una única serie de cromosomas (n), en contraste con diploide ($2n$).

Heterocigótico o heterocigoto: En Genética un individuo diploide que para un gen dado, tiene en cada uno de dos cromosomas homólogos (locus) un alelo distinto, (se expresa, por ej.: Aa), que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores.

Meiosis: Proceso que consta de dos divisiones nucleares sucesivas en las cuales el número de cromosomas se reduce de diploide ($2n$) a haploide (n), produciéndose la segregación de genes; como consecuencia de la meiosis se pueden formar gametos o esporas (en organismos con alternación de generaciones).

Metafásico: (metafase) Segunda fase de la mitosis (división celular), en la cual la membrana nuclear desaparece y los cromosomas se sitúan en el plano ecuatorial de la célula.

Mitosis: Proceso durante el cual los cromosomas duplicados se dividen longitudinalmente y los cromosomas hijos se separan para formar dos núcleos hijos genéticamente idénticos; en general va acompañada de una citocinesis.

Mitótica: *adjetivo*. De la mitosis o relacionado con ella.

Mutación: Cambio hereditario de un gen de una forma alélica a otra.

Peatmoss: es un material mineral u orgánico, que se utiliza como sostén para la raíz durante su crecimiento y producción de la planta.

Ploidía: Ploidía es un término referido al número de grupos o “juegos” de cromosomas que una célula posee.

Poliploide: Referido a un organismo, tejido o célula con más de dos juegos completos de cromosomas.

Profase: Un estadio temprano en la división nuclear, caracterizado por el acortamiento y el engrosamiento de los cromosomas y de su movimiento hacia la placa metafásica.

Raíz: Habitualmente, el eje descendente de una planta, normalmente bajo tierra, que sirve para fijar a la planta y absorber y conducir el agua y minerales hacia su interior.

Rizomas: Tallo subterráneo más o menos horizontal.

Senescencia: Etapa, generalmente irreversible, de degeneración estructural y funcional que normalmente conduce a la muerte de la planta o de las estructuras de la planta a las que afecta. Durante el envejecimiento predominan los procesos catabólicos sobre los anabólicos.

Telofase: Última fase de la mitosis y de la meiosis, durante la cual los cromosomas se reorganizan en dos nuevos núcleos.

Vial: es un pequeño vaso, botella o recipiente hecho de vidrio o plástico, que con frecuencia se utiliza para almacenar medicamentos o reactivos en presentación de líquidos, polvos o cápsulas.

9. ANEXOS

9.1 Cronograma

No.	ACTIVIDADES	AÑO 2015															
		MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE								
1	Fase de gabinete																
	Revisión de literatura																
	Elaboración del plan de investigación																
	Entrega de proyecto																
	Aprobación																
2	Fase de Campo																
	Reconocimiento del área de trabajo																
	Preparación de materiales e insumos																
	Siembra en macetas																
	Traslado a invernaderos																
	Fertilización química																
3	Fase de laboratorio																
	Colecta de raíces																
	1ra. Colecta 5cm. Altura de planta																
	2da. Colecta 10cm. Altura de planta																
	3ra. Colecta 15cm. Altura de planta																
	Prefijación																
	Fijación																
	Hidrólisis																
	Tinción																
	Aplastamiento																
	Observación en microscopio																
Toma de datos																	
4	Fase de gabinete																
	tabulación de datos																
	elaboración de informe final																

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

9.2 Cuadros de Poggio y sus colaboradores

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	Itp (%)	Ifm (%)	Ifa (%)	Ift (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición	
5cm 9am	1,804	97	16	8	10	131	818.75	74.04580153	21.59090909	6.106870229	7.633587786	22	109.3771686	1	R1	
	248	52	19	11	6	88	463.1578947	59.09090909	21.59090909	12.5	6.818181818	16	100		R2	
	528	19	10	2	2	33	330	57.57575758	30.3030303	6.060606061	6.060606061	31	100		R3	
PROMEDIO							63.57082273	24.49494949	8.222492097	6.837458555	69					
Ift (%)							0.921316271	0.354999268	0.119166552	0.099093602						

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	Itp (%)	Ifm (%)	Ifa (%)	Ift (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición	
5cm 10am	82	192	27.66	7	7	233.66	844.757773	82.17067534	11.83771292	2.995805872	2.995805872	21	100	2	R1	
	43	33	22	5	4	64	290.9090909	51.5625	34.375	7.8125	6.25	16	100		R2	
	5	9	22.55	4	3	38.55	170.9534368	23.3463035	58.49546044	10.37613489	7.782101167	12	100		R3	
PROMEDIO							52.35982628	34.90272445	7.061480254	5.675969013	49					
Ift (%)							1.068567883	0.712300499	0.144111842	0.115836102						

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	Itp (%)	Ifm (%)	Ifa (%)	Ift (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición	
5cm 11am	242	27	18.33	4	4	53.33	290.943808	50.62816426	34.37089818	34.37089818	7.500468779	12	126.8704294	3	R1	
	209	6	16.11	9	11	42.11	261.3904407	14.24839706	38.25694609	38.25694609	26.12206127	30	116.8843505		R2	
	578	64	25	7	8	104	416	61.53846154	24.03846154	24.03846154	7.692307692	29	117.3076923		R3	
PROMEDIO							42.13834095	32.22210194	32.22210194	13.77161258	71					
Ift (%)							0.59349776	0.453832422	0.453832422	0.193966374						

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
10cm 9am	342	69	33.66	8	5	115.66	343.6125966	59.65761715	29.10254193	6.916825177	100.0432302	20	195.7202144	4	R1
	256	42	27.88	9	3	81.88	293.687231	51.29457743	34.04982902	10.99169516	100.036639	16	196.3727406		R2
	1,691	6	34	2	0	42	123.5294118	14.28571429	80.95238095	4.761904762	100	35	200		R3
							PROMEDIO	41.74596962	48.0349173	7.556808368	100.026623	71			
							lft (%)	0.211267606	0.676548131	0.106433921	1.408825677				

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
10cm 10am	130	5	41	12	11	69	168.2926829	7.246376812	59.42028986	17.39130435	15.94202899	8	100	5	R1
	2	33	48	36	34	151	314.5833333	21.85430464	31.78807947	23.8410596	22.51655629	15	100		R2
	10	40	50	51	26	167	334	23.95209581	29.94011976	30.53892216	15.56886228	15	100		R3
							PROMEDIO	17.68425909	40.3828297	23.92376204	18.00914918	38			
							lft (%)	0.394736842	1.062706045	0.629572685	0.473924979				

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	IMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
10cm 11am	241	9	18	3	5	35	194.4444444	25.71428571	51.42857143	8.571428571	14.28571429	18	100	6	R1
	118	4	15	0	2	21	140	19.04761905	71.42857143	0	9.523809524	6	100		R2
	25	25	18	86	62	191	1061.111111	13.08900524	9.42408377	45.02617801	32.46073298	13	100		R3
							PROMEDIO	19.28363667	44.09374221	17.86586886	18.75675226	37			
							lft (%)	0.405405405	1.191722762	0.482861321	0.50693925				

Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	lMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
15cm 9am	451	6	72	4	9	91	126.3888889	6.593406593	79.12087912	4.395604396	9.89010989	15	100	7	R1
	112	19	75	43	32	169	225.3333333	11.24260355	44.37869822	25.44378698	18.93491124	22	100		R2
	1,107	174	82	6	15	277	337.804878	62.81588448	29.60288809	2.166064982	5.415162455	33	100		R3
PROMEDIO							26.88396487	51.03415514	10.66848545	11.41339453	70				
lft (%)							0.526783774	4.783636381	0.934733784	0.163048493					

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	lMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
15cm 10am	1,887	3	39.66	33	32	107.66	271.4573878	2.786550251	36.83819432	30.65205276	29.72320268	21	100	8	R1
	1	0	33	64	33	130	393.9393939	0	25.38461538	49.23076923	25.38461538	20	100		R2
	1,239	6	27.88	18	14	65.88	236.2984218	9.107468124	42.31936855	27.32240437	21.25075896	19	100		R3
PROMEDIO							3.964672792	34.84739275	35.73507545	25.45285901	60				
lft (%)							0.113772437	0.975159344	1.403970982	0.424214317					

altura/hora	Interfase	Profase	Metafase	Anafase	Telofase	IM	lMe (%)	lfp (%)	lfm (%)	lfa (%)	lft (%)	Tiempo (min.)	IMt (%)	No. Tratamiento	No. Repetición
15cm 11am	363	24	57.66	18	14	113.66	197.1210545	21.11560795	50.73024811	15.83670597	12.31743797	15	100	9	R1
	326	33	68	74	66	241	354.4117647	13.69294606	28.21576763	30.70539419	27.38589212	20	100		R2
	66	23	59	45	31	158	267.7966102	14.55696203	37.34177215	28.48101266	19.62025316	15	100		R3
PROMEDIO							16.45517201	38.76259597	25.00770427	19.77452775	50				
lft (%)							0.32910344	0.775251919	0.500154085	0.395490555					

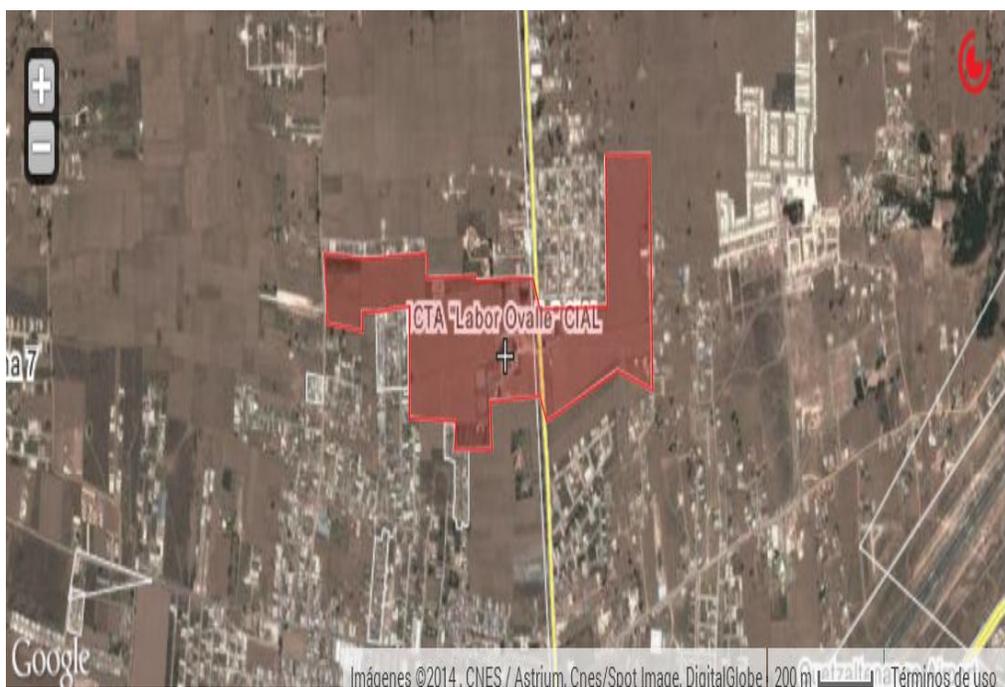
Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 1: Ubicación del Municipio de Olinstepeque en el Departamento de Quetzaltenango.



Fuente: PDM, Olinstepeque.

Imagen 2: Ubicación del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola -ICTA-.



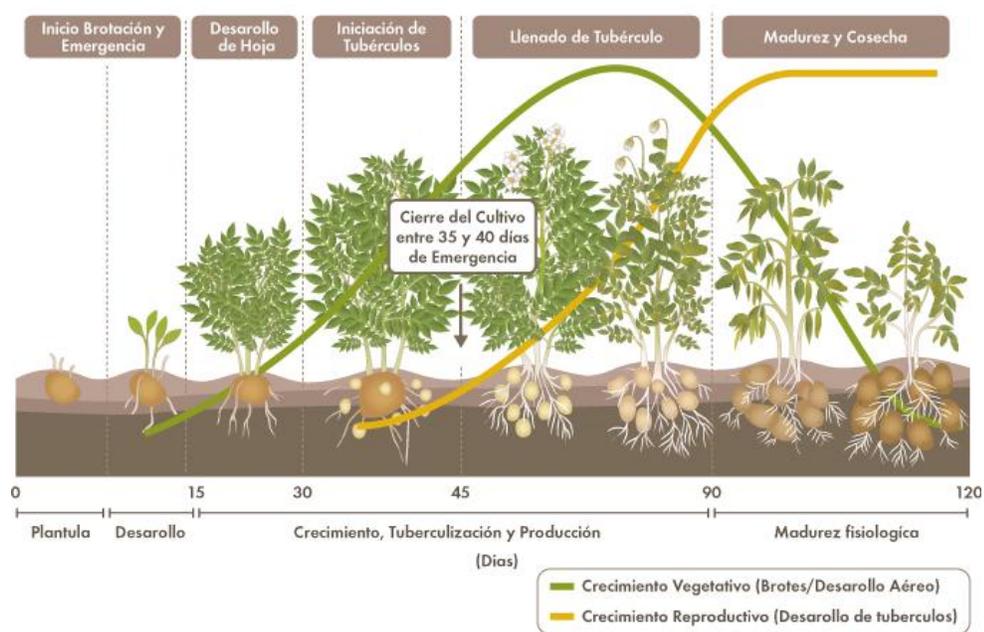
Fuente: Imágenes 2014, CNES/ Austin Cnes.

Imagen 3: Áreas de producción de papa en Guatemala.



Fuente: Ronaldo García/ deGUATE.com

Imagen 4: Ciclo vegetativo de la papa *Solanum tuberosum*.



Fuente: google imagen

Imagen 5: Equipo de cómputo, software y cámara fotográfica, microscopio.



Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 6: Plántulas preparadas para la extracción de ápices radiculares.



Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 7: Colecta de ápices radiculares del cultivar Loman.



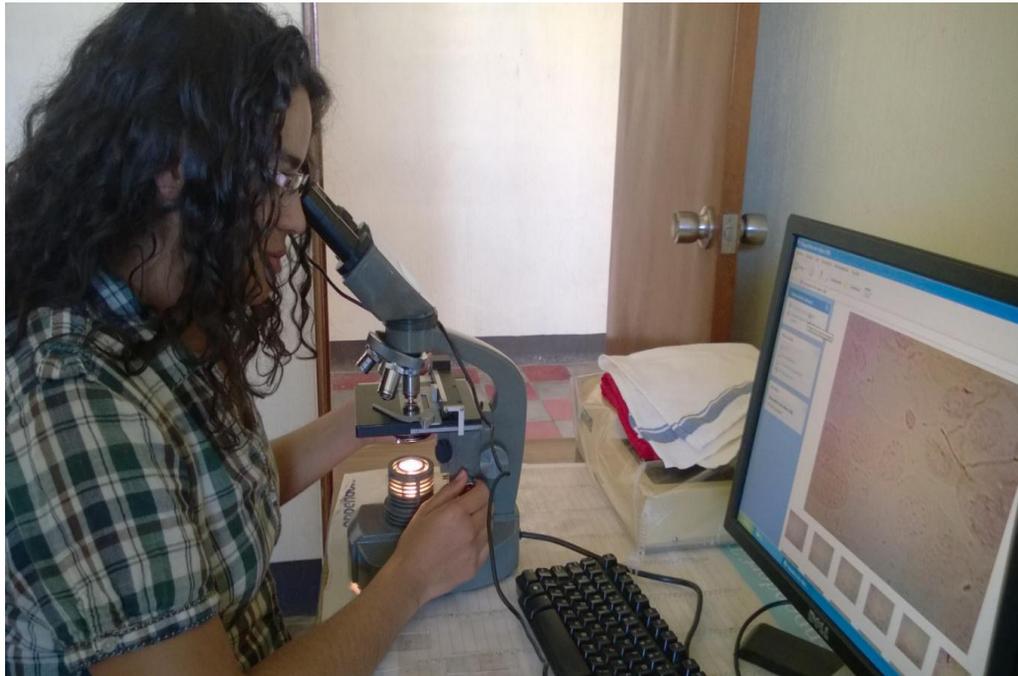
Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 8: Elaboración de montajes de ápices radiculares de Loman.



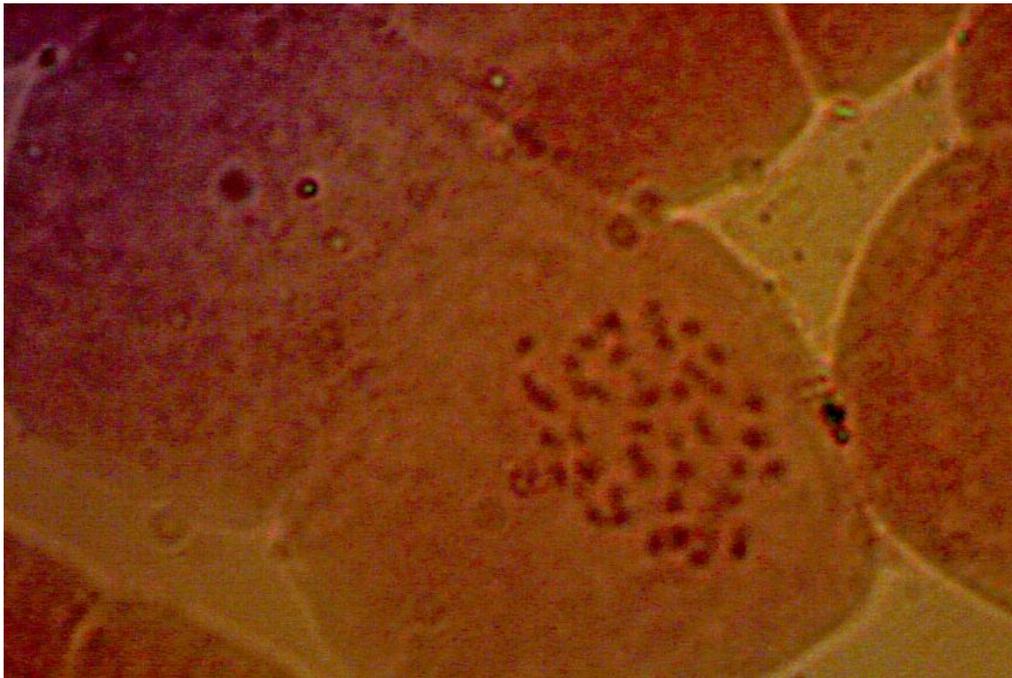
Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 9: Toma de microfotografías del ciclo de la mitosis.



Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 10: Célula en etapa de metafase, muestra radicular de plántulas de 15 centímetros de altura.



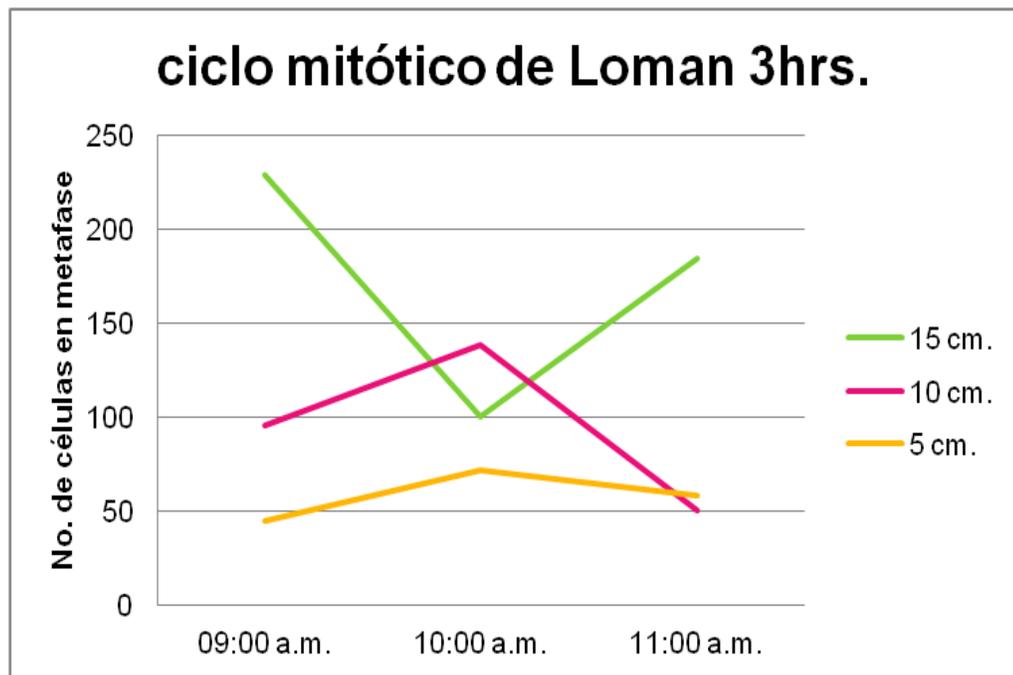
Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 11: Estoma de hojas de *Solanum tuberosum* de la variedad Loman



Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015

Imagen 12: Gráfica del ciclo celular mitótico de *Solanum tuberosum* de la variedad Loman.



Fuente: Fase de Campo y Gabinete. -ICTA- -CIALO-. 2015