



Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

Programa Nacional de Raíces y Tubérculos

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PAPA: Conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos



Xavier Cuesta
Jorge Rivadeneira
Cecilia Monteros

Publicación Miscelánea No. 426

Junio, 2015, Quito - Ecuador

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), 2015

Programa Nacional de Raíces y Tubérculos

Publicación No. 426

ISBN: 978-9942-07-882-7

Cita:

Cuesta, X., Rivadeneira J., Monteros C. (2015). Mejoramiento Genético de papa: Conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos. Quito (Ecuador), Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 62p.

Junio, 2015

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

Programa Nacional de Raíces y Tubérculos

**MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PAPA:
Conceptos, procedimientos,
metodologías y protocolos**

Xavier Cuesta

Jorge Rivadeneira

Cecilia Monteros

CONTENIDO

A. Introducción	1
B. Mejoramiento Genético	
C. Métodos de Mejoramiento	
D. El Programa de mejoramiento genético de papa del INIAP	
E. Esquema del Mejoramiento genético en papa	
1. Selección de progenitores y cruzamientos.....	
2. Siembra de progenies en invernadero y campo.....	
3. Primeras generaciones clonales.....	
4. Pruebas preliminares en la Estación Experimental.....	
5. Pruebas interacción genotipo x ambiente.....	
6. Ensayos de validación	
7. Liberación de la variedad.....	
8. Mantenimiento y multiplicación de la variedad	
F. Bibliografía	
G. Anexos	
Anexo 1 Recomendación para la Ubicación de los Ensayos.....	
Anexo 2 Manejo agronómico del Ensayo.....	
Anexo 3 Variables antes, durante y después de la floración	
Anexo 4 Variables a la cosecha.....	
Anexo 5 Variables de calidad en Post-cosecha.....	
Anexo 6 Pruebas de fritura	

Anexo 7 Evaluaciones sensoriales.....

Anexo 8 Evaluación con actores de la cadena

Anexo 9 Escala para la estimación del tizón tardío en follaje.....

Anexo 10 Formato registro de actividades.....

Anexo 11 Evaluación, fase emergencia, floración madurez.....

Anexo 12 Evaluación, caracterización morfológica de la planta.....

Anexo 13 Evaluación fase cosecha

Anexo 14 Evaluación fase antes, durante y después de la floración

Anexo 15 Evaluación fase cosecha

Anexo 16 Evaluación fase pos cosecha. Determinación de sólidos.....

Anexo 17 Evaluación fase pos cosecha. Contenidos nutricionales.....

Anexo 18 Formato de evaluación fase pos cosecha
y almacenamiento.....

Anexo 19 Evaluación papa frita

Anexo 19 Calidad de cocción

Anexo 20 Evaluación Absoluta

H. Material suplementario

Presentación

El documento “Mejoramiento genético de papa: conceptos, metodologías y protocolos”, constituye una herramienta de apoyo para los investigadores involucrados en el mejoramiento genético de plantas y específicamente aquellos relacionados con el desarrollo de nuevas variedades mejoradas de papa. También representa un documento informativo y de consulta para estudiantes y docentes de Universidades de las cátedras de fitomejoramiento y genética.

Dentro del INIAP es un documento de soporte a todas las actividades que realiza el Programa de mejoramiento de papa, en la primera parte del documento se realiza una descripción teórica de conceptos y métodos de mejoramiento genético comúnmente empleados en papa, se explican los objetivos del programa de mejoramiento genético y cuál es el ideotipo requerido para los diferentes usuarios y demandas de las cadenas de valor. A continuación se describe cada etapa del esquema de mejoramiento desde la selección de progenitores los cruzamientos, las pruebas preliminares de rendimiento a nivel de Estación Experimental, las pruebas complementarias en varios ambientes hasta el proceso de multiplicación y mantenimiento de la variedad. Para cada fase se sugiere el uso de un formato específico para el registro de la información.

Para este documento se ha puesto especial énfasis en lo que se refiere a mejoramiento para calidad para consumo en fresco y procesamiento, resistencia al tizón tardío y como material suplementario se presenta el proceso de mejoramiento para sequía.

Xavier Cuesta S.

A. INTRODUCCIÓN:

EL Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) a través del Programa Nacional de Raíces y Tubérculos (PNRT-papa), desde inicios de los años sesenta trabaja en el desarrollo de alternativas tecnológicas para mejorar la productividad y competitividad del rubro en beneficio de los diferentes actores de la cadena productiva.

Para lo cual el PNRT-papa con el apoyo de los diferentes Departamentos del INIAP trabaja conjuntamente en varias áreas: mejoramiento genético, agronomía y manejo del cultivo, tecnología de producción de semilla, manejo de suelos y fertilización, manejo integrado de plagas y enfermedades, pos cosecha y valor agregado. Además apoya procesos de validación, difusión y capacitación de las tecnologías generadas hacia los diferentes usuarios.

En relación al número de especies relacionadas que pueden ser utilizadas en mejoramiento genético, la papa posee los mayores recursos genéticos conocidos para un cultivo, se estiman unas 200 especies silvestres del género *Solanum* con gran diversidad de caracteres; esta es una ventaja ya que este germoplasma se puede incorporar en especies cultivadas mediante cruzamientos o manipulaciones genéticas (Estrada, 2000).

La diversidad genética de las papas *Solanum* Sec. *Petota* (Solanaceae), pueden agruparse en silvestres y cultivadas; éstas últimas agrupadas en nativas y mejoradas (Salas et al., 2010). En relación a la ploidía las papas cultivadas *Solanum tuberosum* son tetraploides ($2n=4x=48$), mientras que las nativas son altamente diversas, diploides ($2n=2x=24$), triploides ($2n=3x=36$), tetraploides ($2n=4x=48$), pentaploides ($2n=5x=60$) y hexaploides ($2n=6x=72$) (Huaman and Spooner, 2002).

Existe la necesidad de nuevas variedades a pesar del gran número existente, debido al requerimiento por parte de los diferentes usuarios de nuevas variedades que aporten más beneficios económicos a través de mayores rendimientos a menor costo de producción, con resistencia a plagas y enfermedades que sean amigables con el ambiente al reducir el uso de pesticidas. Deben ser más eficientes en el uso de agua y minerales especialmente nitrógeno y fósforo. Además, es necesario desarrollar variedades que se adapten a las preferencias de los diferentes actores de la cadena de valor por cada zona, que satisfagan los nuevos hábitos de consumo y se adapten al cambio climático el cual ha ocasionado que nuevos problemas de naturaleza biótica y abiótica se conviertan en limitantes del cultivo.

B. MEJORAMIENTO GENÉTICO:

Consiste en el desarrollo de nuevas variedades con características agronómicas deseables de resistencia a factores bióticos o abióticos y calidad. Para lo cual se utilizan varios métodos desde la selección fenotípica por características de interés hasta el uso de herramientas biotecnológicas avanzadas. El mejoramiento genético comprende todas las actividades dirigidas a la producción de variedades con constitución genética mejorada y está relacionado con las necesidades de la sociedad.

Estas actividades pueden dividirse en:

1. El mejoramiento genético mismo, orientado hacia la producción de variedades mejoradas.
2. La investigación en mejoramiento genético, con actividades relacionadas con el descubrimiento de nueva información, nuevos procedimientos, nuevo material de inicio.

El término “mejorado” depende de nuestros objetivos. En general significa un mejoramiento en cantidad (rendimiento), calidad (sabor, color), precocidad, resistencia y tolerancia a enfermedades.

Según (van de Wiel et al., 2010, Schaart and Visser, 2009) se distinguen dos grandes grupos de mejoramiento 1) tradicional o convencional y 2) mejoramiento no tradicional que considera nuevas técnicas.

Tradicional o convencional: Se refiere al desarrollo de nuevas variedades a partir de cruzamientos sexuales, seguido de su propagación clonal y selección.

Nuevas técnicas: pueden directa o indirectamente utilizar técnicas que implican modificación genética como la agroinfiltración, cisgenesis e intragenesis entre otras.

Los primeros esfuerzos de los fitomejoradores se centraron en la selección para rendimiento y resistencia a enfermedades. Luego se incorporaron criterios de aspecto de tubérculo (forma, profundidad de ojos, color de piel, pulpa, etc.), posteriormente se adicionaron caracteres de conservación para almacenamiento, resistencia a golpes durante el transporte y manipuleo. Actualmente, se han incluido criterios de calidad del tubérculo, contenido de materia seca, azúcares reductores, carotenoides, vitaminas, minerales, etc.

El proceso de fitomejoramiento, por las características de reproducción del cultivo (vegetativa), sumado, a la naturaleza tetraploide y a la forma de realizar

el mejoramiento (cruzamientos y pedigrí) hacen este proceso largo que puede durar hasta 12 años para la obtención de la variedad mejorada. Después del cual si no se tienen una estrategia de difusión de las nuevas variedades aún es necesario un periodo similar para que la variedad sea comercializada y difundida a gran escala.

C. MÉTODOS DE MEJORAMIENTO:

Para este documento se describen algunos de los métodos comúnmente utilizados para el mejoramiento genético en papa.

- 1. Selección clonal:** Es un método simple que en corto plazo (4-5 años) podemos seleccionar un genotipo con características superiores que puede ser desarrollada como una variedad mejorada. Consiste en sembrar clones de papa (material genéticamente uniforme), en más de 3 localidades y evaluar su comportamiento por varios ciclos, con el objetivo de seleccionar aquellos genotipos que presenten mejor comportamiento agronómico, mayor estabilidad para resistencia a enfermedades, calidad y características agronómicas.
- 2. Selección por pedigrí:** Consiste en que después de realizar el cruzamiento, la semilla botánica de la generación F1 es sembrada espaciadamente para facilitar la selección. Luego se aplica selección de familias (cruzas) y posteriormente dentro de las familias las mejores plantas son escogidas.
- 3. Selección recurrente:** En el caso de papa se utiliza principalmente para incrementar los niveles de resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*). Para lo cual clones con altos niveles de resistencia son identificados en las primeras fases clonales, estos son seleccionados como nuevos progenitores para elevar la frecuencia de genes asociados con la resistencia en las nuevas progenies que se desarrollarán a partir de los mismos.
- 4. Retro cruzamiento:** El objetivo es introducir un carácter en una variedad de alto valor comercial, económico o agronómico. Al progenitor bien adaptado al cual se le agrega el carácter se le denomina progenitor recurrente. Consiste en el cruzamiento de uno de los individuos seleccionados (con el carácter deseado) de la primera generación clonal con el progenitor recurrente.
- 5. Métodos no convencionales:**
 - 1. Fusión de protoplastos:* Se produce la fusión de los protoplastos de

dos o más células de plantas de especies diferentes que no es posible combinarlos a través de métodos convencionales, dando lugar a un híbrido somático.

2. *Doble haploides (DH)*: Es un método eficiente para producir plantas homocigóticas a partir de plantas heterocigóticas. El material de inicio es inducido a producir DH a partir de células haploides.
3. *Transformación*: Es llevada a cabo añadiendo un gene o genes específicos a una planta, o silenciando un gene, para producir el genotipo deseado. Las plantas resultantes de este proceso se denominan plantas transgénicas. A través de este método se obtiene la planta con el carácter deseado más rápido que usando el mejoramiento convencional.
4. *Mejoramiento molecular*: es el término genérico utilizado para describir estrategias modernas que incluyen la selección asistida por marcadores moleculares (MAS), retro cruzamientos asistidos por marcadores moleculares (MABC) y recientemente la selección recurrente asistida con marcadores moleculares.

En el **Cuadro 1**, se presenta el método de mejoramiento utilizado para el desarrollo de algunas variedades mejoradas de papa las cuales están disponibles en los mercados o en campos de agricultores para su comercialización

Cuadro 1. Descripción de las principales variedades de papa y el método de mejoramiento empleado.

Variedad	Año liberación	Obtentor	Método de mejoramiento
INIAP-Sta. Catalina	1965	INIAP	Pedigrí
INIAP-Gabriela	1982	INIAP	Pedigrí
INIAP-Esperanza	1983	INIAP	Pedigrí
Superchola	1984	G. Bastidas	Pedigrí
INIAP-Fripapa	1995	INIAP	Selección clonal
INIAP-Victoria	2007	INIAP	Pedigrí
INIAP-Natividad	2007	INIAP	Pedigrí
INIAP-Puca shungo	2011	INIAP	Pedigrí
INIAP-Yana shungo	2011	INIAP	Pedigrí

Fuente: (Cuesta et al., 2014)

6. Mejoramiento participativo:

Con el objetivo de acelerar el proceso de selección de clones con las características requeridas, es posible en algunos casos incluir la participación de los diferentes usuarios (agricultores, comerciantes y consumidores) en las últimas etapas del esquema de mejoramiento (**Figura 1**) para que apoyen el proceso de selección de los genotipos deseados, basado en sus criterios.

D. EL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PAPA DEL INIAP

1. Ideotipo:

El concepto de ideotipo en mejoramiento genético describe la apariencia idealizada de una variedad con una combinación específica de características la cual se espera que tenga un comportamiento particular dentro de un ambiente definido (Cuesta, 2013).

Para el caso de papa en nuestro País el ideotipo varía por cada zona geográfica y está definido por las preferencias de los agricultores, comerciantes y consumidores, los cuales están relacionados con caracteres agronómicos, de calidad del tubérculo y características relacionadas con el procesamiento de la papa.

En términos generales el ideotipo de papa debe poseer resistencia al tizón tardío, precocidad (< 150 días) y alto rendimiento (>30 t/ha). El tubérculo debe tener forma entre redonda a alargada con ojos superficiales, de tamaño mediano (60-90 g), el color de la piel puede ser rojo, rosado o blanco crema para el caso de la Provincia de Cotopaxi y la pulpa debe tener color amarillo. En relación a los caracteres de calidad debe tener consistencia harinosa (alto contenido de materia seca), buen sabor, rápida cocción y adecuada para varias preparaciones culinarias (Cuesta, 2013).

1. Limitantes:

En el Ecuador el ideotipo de papa es influenciado por las preferencias de los usuarios de la cadena de valor y la zona geográfica. Algunos caracteres tienen herencia monogénica como la forma del tubérculo, mientras que otros como el rendimiento y la resistencia a enfermedades tienen herencia poligénica.

Se estima que en total todas las características que son necesarias mejorar suman más de 60 pares de genes, lo cual sumado a la herencia tetrasómica de la papa hacen que el encontrar la papa ideal sea una tarea difícil de cumplir. Sin embargo, a través del mejoramiento convencional es posible obtener variedades

que resuelven parcialmente algunos de los problemas más urgentes como resistencia al tizón tardío, calidad del tubérculo y recientemente con el uso de los marcadores moleculares se puede incrementar la probabilidad de seleccionar el genotipo con los caracteres requeridos.

2. Objetivos:

Los objetivos del programa de mejoramiento pueden variar dependiendo de las demandas de los diferentes actores de la cadena de valor de papa. Sin embargo, estos van a estar relacionados con caracteres agronómicos, de resistencia a enfermedades y calidad. Según el estudio de Cuesta, (2013) en el Ecuador se requiere desarrollar nuevas variedades de papa con:

- Mayor rendimiento (>30 t/ha)
- Precocidad (< 150 días)
- Resistencia a factores bióticos
- Resistencia a factores abióticos
- Calidad:
 - o *Consumo en fresco*: forma redonda – oblonga, ojos superficiales, pulpa amarilla, piel color rosado-rojo, blanco crema, sabor agradable, textura arenosa, alto contenido de materia seca (> 16%), antioxidantes, altos contenidos de Fe y Zn.
 - o *Procesamiento*: ojos superficiales, forma redonda (hojuelas), forma alargada (bastones), materia seca (>20%), azúcares reductores (<0.2%)

3. Áreas de mejoramiento:

Para el desarrollo de nuevas variedades de papa se tienen identificadas las siguientes áreas:

- Mejoramiento para resistencia a factores bióticos: tizón tardío (*Phytophthora infestans*), patógenos de suelo (*Rhizoctonia solani*, *Pectobacterium sp.*, *Globodera sp.*) virus (PVY, PVV y PLRV).
- Mejoramiento para resistencia a factores abióticos:
 - o Bajas temperaturas
 - o Déficit hídrico

- o Bajos niveles de fertilidad
- o Altas temperaturas
- Mejoramiento para calidad
- o Consumo en fresco: según preferencia de los consumidores, biofortificación (Hierro y Zinc)
- o Usos industriales: hojuelas, bastones, otros productos (v.g. almidón)

El proceso de mejoramiento genético es dinámico y nuevas limitantes de naturaleza biótica y abiótica pueden aparecer, los objetivos, las áreas de mejoramiento y los métodos de selección pueden cambiar en el tiempo.

E. ESQUEMA DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN PAPA

En la **Figura 1**, se describe el detalle del proceso de mejoramiento propuesto para el desarrollo de nuevas variedades de papa en el INIAP, el cual comprende 7 pasos básicos y adicionalmente se considera el mantenimiento y la multiplicación de la variedad:

1. Selección de progenitores y cruzamientos
2. Siembra de progenies en invernadero y campo
3. Primera generación clonal
4. Pruebas preliminares en la Estación Experimental
5. Pruebas complementarias efecto genotipo x ambiente
6. Ensayos de validación
7. Liberación de la variedad
8. Mantenimiento y multiplicación de la variedad

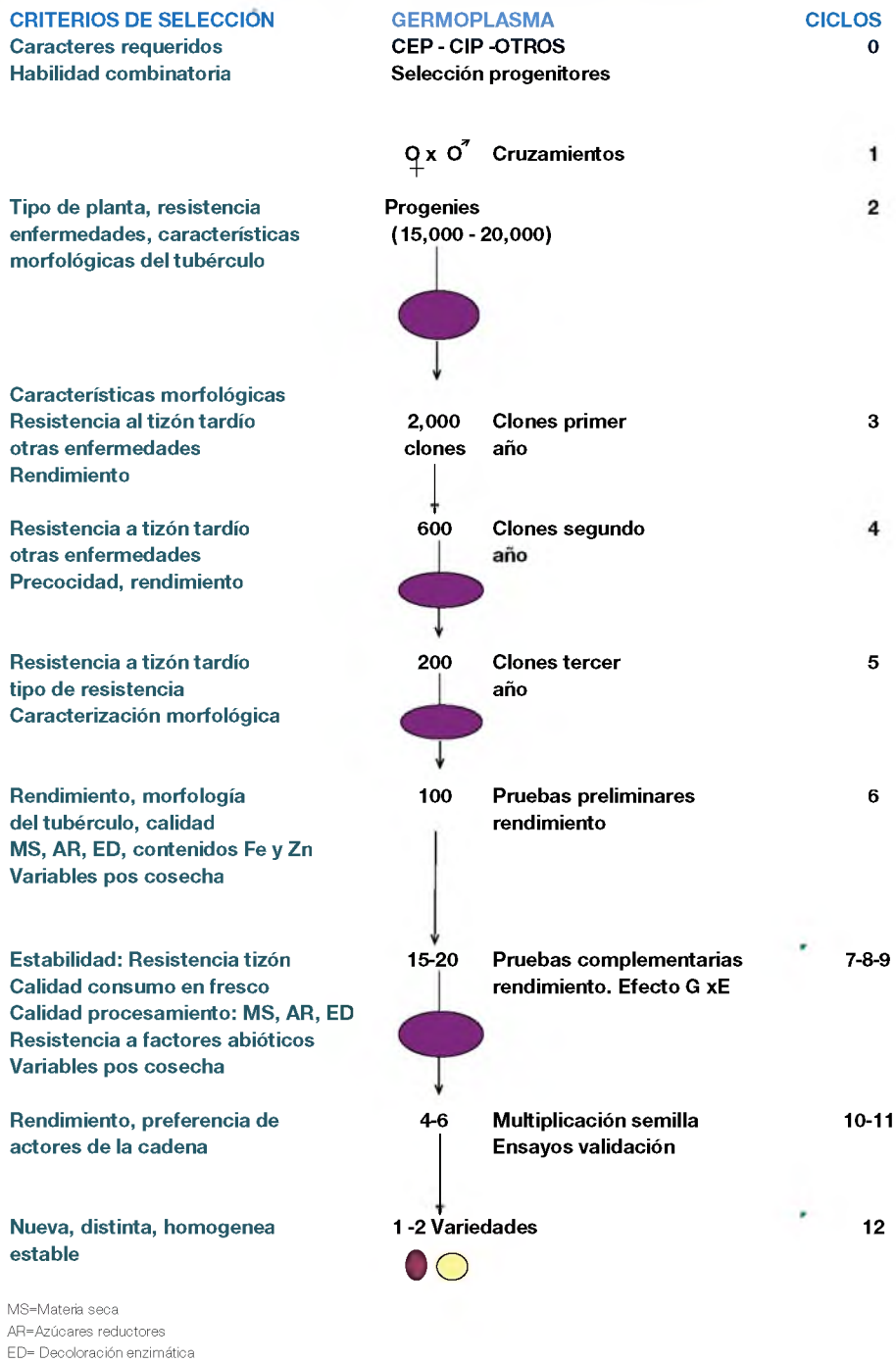


Figura 1. Esquema de mejoramiento genético de papa *

* Las cantidades (genotipos) producidas y seleccionadas en cada ciclo son referenciales, estas pueden variar.

1. SELECCIÓN DE PROGENITORES Y CRUZAMIENTOS

Objetivos:

- Seleccionar progenitores con las características requeridas
- Realizar cruzamientos entre los progenitores seleccionados
- Obtener progenies resultado de los cruzamientos

Ubicación:

Esta fase del esquema de mejoramiento se ubicará en el invernadero del PNRT-papa de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del INIAP.

Genotipos:

- Progenitores seleccionados por características deseadas (12 -20)
- Se realizarán al menos 100 cruzamientos
- Se obtendrán hasta 20,000 progenies

Procedimiento:

1. Selección de los progenitores:

Dependiendo de los objetivos del programa de mejoramiento se escogerán los progenitores basados en la información de la herencia de los caracteres requeridos, su comportamiento en cruzamientos previos y en información sobre su habilidad combinatoria. La fuente de variación para la selección será la Colección Ecuatoriana de la Papa (CEP) la cual posee más de 550 accesiones, de las cuales la mayoría corresponden a variedades nativas de las especies *S. andigena*, *S. phureja*, *S. chaucha* y *S. stenotomum*, la cual es mantenida por el Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF) del INIAP.

Un menor número son variedades mejoradas generadas por el INIAP o introducidas de otros orígenes y clones promisorios del programa de mejoramiento del INIAP o del Centro Internacional de la Papa (CIP).

De esta gran variabilidad disponible el PNRT-papa para su uso en mejoramiento genético ha seleccionado aquellos más representativos por sus características agronómicas, de calidad y de resistencia a factores bióticos y abióticos. Este germoplasma es denominado la colección central, la cual ha sido caracterizada para los principales caracteres de interés (Monteros, 2011, Cuesta, 2013) y está conformado por 50 accesiones.

Debido al nivel de ploidia ($2n=2x=24$) de las especies *S. phureja* y *S. stenotomum* y de algunas silvestres, en caso de utilizar este germoplasma como progenitores, es necesario realizar una fase previa de pre-mejoramiento a nivel diploide.

2. Siembra de progenitores

Los progenitores se sembrarán bajo condiciones de campo e invernadero, al menos diez plantas por genotipo, primero los progenitores machos y después de dos semanas los progenitores hembras, con el objetivo de facilitar la polinización.

En campo los progenitores serán sometidos a dosis elevadas de fertilizantes nitrogenados (el doble de lo recomendado), el cual debe distribuirse en varias aplicaciones. Con esta práctica se logra el crecimiento vigoroso de las plantas, (Malagamba and Cabello, 1996).

3. Recolección de las flores masculinas, extracción y almacenamiento del polen

Cuando los progenitores masculinos han iniciado su floración, se recolectarán las flores para extraer el polen, el que se usará posteriormente en la polinización de los progenitores femeninos. De los progenitores sembrados en campo se extraerán ramillas conteniendo botones florales y flores completamente abiertas.

La recolección debe realizarse antes de las 10 de la mañana de tal forma que se asegure un óptimo estado de las flores y permita un mayor rendimiento de polen. Una vez recolectadas las flores, se doblan los pétalos y se separa el pistilo. Se deja secar por 24 horas y luego se extrae el polen con la ayuda de un vibrador. El polen se recolecta en cápsulas de gelatina y se almacena en pequeños recipientes oscuros con silica gel bajo condiciones de refrigeración (**Figura 2**).

Se lo puede almacenar por una semana a 5°C, o a -12°C si el tiempo es mayor (Malagamba and Cabello, 1996).

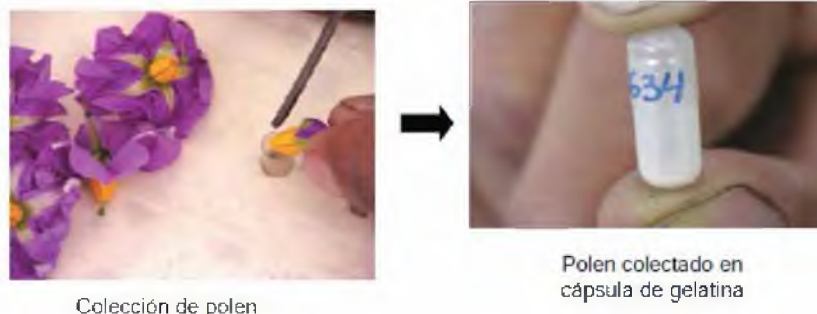


Figura 2. Recolección de flores masculinas, extracción y almacenamiento de polen.

4. Emasculación y polinización

Una vez iniciada la época de floración, se eliminarán las flores abiertas y botones inmaduros, procediendo a la emasculación, la cual consiste en retirar las anteras de las flores que van a ser polinizadas. Es una operación delicada que exige mucha mano de obra, medidas sanitarias especiales para el uso del instrumental y para el personal que la manipula para evitar contaminaciones.

La polinización consiste en colocar el polen sobre el estigma de las flores del progenitor femenino con el fin de inducir artificialmente el proceso de fertilización y fecundación. Las polinizaciones deben realizarse usualmente en la mañana antes de las 10 am, si los días son calurosos es posible hacerlos al final de la tarde. El probable éxito del cruzamiento es apreciado por un pedicelo sostenido y ligeramente curvado, unos 2-4 días después de la polinización, con un posterior desarrollo de frutos (bayas). Una vez realizado el cruzamiento, se colocará una etiqueta con los nombres de los progenitores, la fecha de emasculación, fecha de polinización, número de flores cruzadas, la hora en que se realizó el cruzamiento y el nombre de la persona que realizó el cruzamiento (Orillo and Bonierbale, 2009) (**Figura 3**).



Figura 3. Procedimiento para efectuar las polinizaciones en un bloque de cruzamientos.

5. Cosecha de bayas

Una vez fecundadas las flores de los progenitores femeninos, se inicia la fructificación o formación de los frutos o bayas. Cuando las bayas han alcanzado un desarrollo adecuado y están maduras, lo que normalmente ocurre seis a ocho semanas después de la polinización, se procederá a la cosecha. Normalmente los frutos se protegen durante su desarrollo con una malla fina (Orillo and Bonierbale, 2009).

La cantidad final de bayas por planta y su peso o tamaño dependen entre otros factores del progenitor femenino, calidad del polen, aporte de nutrientes a las plantas y de las condiciones climáticas predominantes en el lugar donde se producen (Malagamba and Cabello, 1996).

6. Extracción y procesamiento de la semilla

Esta es la etapa final y en ella se incluyen las siguientes actividades:

Maduración de bayas: las bayas cosechadas se colocarán en bolsas de papel hasta su maduración a temperatura ambiente, esperando hasta que se tornen suaves lo cual permite que el proceso de extracción sea más fácil.

Maceración: Las bayas maduras serán trituradas en un recipiente con agua donde serán separadas las semillas de las otras partes del fruto. Las semillas viables se depositarán en el fondo, mientras las semillas llamadas vanas flotarán.

Desinfección: se sumergirán las semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante cinco minutos.

Secado: las semillas se extenderán sobre mallas finas y se dejarán secar inicialmente por 48 horas bajo sombra. Posteriormente las semillas se recogerán en bolsas de papel y se colocarán en un desecador hasta reducir su contenido de humedad hasta 4.5%

Almacenamiento: La semilla se envasará en bolsas de papel laminado de aluminio, que finalmente se sellará. En estas condiciones se puede conservar la semilla a 5°C hasta que termine su dormancia.

2. SIEMBRA DE PROGENIES EN INVERNADERO/CAMPO

Objetivos:

Evaluar y seleccionar progenies de la filial 1 (F1) con resistencia a enfermedades, características agronómicas y de calidad.

Ubicación:

Los ensayos estarán ubicados bajo condiciones de invernadero y campo en la EESC.

Genotipos:

En invernadero se sembrarán las progenies obtenidas de los cruzamientos previamente realizados (hasta 20,000), las cuales posteriormente serán trasplantadas a campo.

Procedimiento:

1. Manejo en invernadero:

La semilla sexual obtenida de los respectivos cruzamientos, será sometida a un tratamiento con ácido giberélico (500 – 1,500 ppm) para promover su germinación, las mismas que serán ubicadas en cajas petri. Una vez germinadas las semillas serán trasplantadas a bandejas germinadoras por cada familia (cruzamiento), las cuales deberán contener un sustrato de compost. Cuando las plántulas alcancen un desarrollo entre 5 a 10 cm serán trasplantadas a vasos plásticos de 200 cc de capacidad conteniendo compost. Las plántulas luego de 2 semanas de desarrollo en invernadero serán sometidas a un proceso de aclimatación de una semana previo a su trasplante a campo, para lo cual serán ubicadas bajo una cubierta de sarán en el exterior del invernadero.

2. Trasplante y manejo en campo:

Las plántulas después del proceso de aclimatación serán trasplantadas por cada familia a campo en surcos de 1.10 m a una distancia de 0.40 m entre plántulas, en bloques de 10 m de longitud. El orden de siembra de las familias será al azar, tomando en cuenta que al inicio y final de cada una deberá sembrarse un tubérculo de una variedad mejorada, se sugiere utilizar INIAP-Fripapa por sus características morfológicas fáciles de identificar; cada 5 surcos de siembra se deberá sembrar alternadamente un surco de una variedad susceptible al tizón tardío como Uvilla y un surco de una variedad resistente (v.g. INIAP- Victoria).

En campo, se realizarán las mismas labores de manejo del cultivo recomendadas por el INIAP (Anexo 2), para prevenir y controlar tizón tardío dependiendo de las condiciones climáticas se realizarán entre tres a cinco controles utilizando productos sistémicos, las progenies que a pesar de los controles presenten susceptibilidad a la enfermedad serán descartadas basados en la comparación con los testigos empleados.

3. Criterios de selección

Se realizarán evaluaciones referentes a:

- Desarrollo del follaje, se deberán descartar plantas defectuosas y se utilizará una escala arbitraria (1= SI; 2 = NO).
- A la cosecha se eliminarán las plantas con estolones largos, tubérculos deformes y rendimientos menores a 0.5 kg /planta. La cosecha se realizará en forma individual por cada progenie a la madurez comercial.
- Se realizarán evaluaciones visuales de la presencia de enfermedades, se eliminarán las susceptibles.

En función de las evaluaciones se seleccionarán hasta 2,000 clones, aquellos que presenten mayor grado de resistencia y mejores características agronómicas. Se descartarán los susceptibles, de malas características, con presencia de virus u otras enfermedades.

La información de los progenitores y las progenies seleccionadas serán almacenadas en una base de datos con información sobre origen, rendimiento, registro fotográfico, etc. Por su facilidad el PNRT-papa utiliza el programa Access de Microsoft - Office.

Codificación de los genotipos:

Para identificar el germoplasma del programa de mejoramiento se utilizará una nomenclatura compuesta por números separados por guiones, así por ejemplo en la identificación 99 - 2- 6, los dos primeros números representan el año de la selección en campo del genotipo, el siguiente número representa la familia (cruzamiento) y el tercer número se refiere a la progenie seleccionada.

Para germoplasma introducido se mantendrá la codificación de origen.

3. PRIMERAS GENERACIONES CLONALES:

Estará constituido por tres generaciones denominadas clones de primero, segundo y tercer año.

Objetivo:

Evaluar y seleccionar clones con resistencia a enfermedades, características agronómicas y de calidad en primeras fases clonales.

Ubicación:

Los ensayos estarán ubicados bajo condiciones de campo en la EESC.

Genotipos:

En campo se sembrarán los clones provenientes de la fase previa (hasta 2,000).

Procedimiento:

Tamaño de parcelas:

El tamaño de las parcelas (**Cuadro 2**) dependerá del ciclo de selección en el cual se encuentre el germoplasma (**Figura 1**) y de la disponibilidad de semilla.

Cuadro 2. Tamaño de parcelas sugerido por tipo de ensayo de mejoramiento a una densidad de 1.1m x 0.30 m por sitio.

Ensayo	Tamaño parcela	Parcela neta
Clones 1er año	1 surco x 1.5 m	3 plantas centrales
Clones 2do año	2 surcos x 1.5 m	3 plantas centrales/surco
Clones 3er año*	2 surcos x 1.5 m	3 plantas centrales/surco

* Consistirá de dos ensayos: con control químico para tizón tardío y sin control

Manejo en campo:

Los clones de las primeras fases clonales se sembrarán bajo condiciones de campo en la EESC del INIAP, el manejo será el que se recomienda en el Anexo 2.

En los ensayos de la primera y segunda generación clonal, el manejo del tizón tardío será similar al de la fase anterior. Para la tercera generación clonal en lo que se refiere al tizón tardío, se establecerán dos ensayos en campo y uno en invernadero/laboratorio:

1. Ensayos en campo:

Se establecerán dos ensayos con control químico y sin control de tizón tardío, para lo cual se ubicarán los clones en bloques de 1.5 m separados 0.50 m. De cada genotipo se sembrarán dos surcos. Se incluirán dos testigos: susceptibles (Uvilla) y resistente (INIAP-Victoria) que se ubicarán cada 20 genotipos (un surco de siembra por variedad testigo).

Ensayo sin control químico: este experimento se lo dejará a libre infección de *P. infestans* en el cual se evaluará la resistencia de los clones según se describe en el (Anexo 3).

Ensayo con control químico: se realizarán controles permanentes de *P. infestans* con fungicidas sistémicos y de contacto con el objetivo de evaluar el potencial de producción de los genotipos sin la presencia del tizón tardío.

2. Prueba de “raza cero y compleja” de *P. infestans*

Con el objetivo de establecer el tipo de resistencia a tizón tardío de los clones (monogénica o poligénica), dos tubérculos de cada material seleccionado serán sembrados en macetas en invernadero. Después de 60 días se inocularán las hojas con la raza 0 y compleja de *P. infestans* se utilizará la metodología descrita en Vleeshouwers et al., (1999). Esta prueba se realizará en el laboratorio del Departamento de Protección Vegetal de la EESC.

Criterios de selección:

- Presencia de enfermedades
- Se registrará la presencia de enfermedades como tizón tardío, virus, patógenos de suelo u otros limitantes de naturaleza biótica (Anexo 11).
- En los clones de la tercera generación clonal se evaluará el nivel de resistencia a tizón tardío de los clones y el tipo de resistencia (monogénica o poligénica) (Niks et al., 2011). Se eliminarán los clones muy susceptibles.
- Hábito de crecimiento: según escala (Anexo 3).
- Madurez del follaje, según la escala (Anexo 3).
- Caracterización morfológica de la planta y el tubérculo: Se realizará antes de la floración, durante la floración y a la cosecha. Para planta y tubérculo se realizará en los ensayos de tercera generación clonal. Se emplearán los descriptores del CIP (Gómez, 2000), se utilizará el formato del Anexo 12 y

se mantendrá un registro fotográfico. La información será almacenada en una base de datos.

- Rendimiento y sus componentes: según lo describe el Anexo 4 y la información se registrará en el formato del Anexo 13.
- Dormancia: según el procedimiento descrito en el Anexo 5.

De los clones provenientes de la fase anterior (hasta 2,000), en la primera generación clonal se seleccionarán hasta 600 clones, en la segunda hasta 200 y en la tercera hasta 100, por los diferentes criterios de selección.

Los clones de la tercera generación clonal que presenten buen nivel de resistencia al tizón tardío serán seleccionados como posibles progenitores dentro del proceso de selección recurrente para incrementar los niveles de resistencia de las nuevas progenies.

4. PRUEBAS PRELIMINARES EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL

Objetivo:

Evaluar y seleccionar clones de papa por características agronómicas, resistencia a enfermedades, calidad para consumo en fresco y procesamiento.

Ubicación:

Los ensayos estarán ubicados bajo condiciones de campo en la EESC.

Genotipos:

En campo se sembrarán los clones seleccionados de la fase previa (hasta 100).

Procedimiento:

Tamaño de parcelas:

Para esta fase los clones se sembrarán en parcelas de 4 surcos de 3.0 m de largo, cada tubérculo se sembrará a una distancia 0.30 m, la parcela neta estará constituida por los dos surcos centrales eliminando las plantas de los extremos (8 plantas por surco).

Dependiendo del tamaño y la forma del lote los tratamientos se ubicarán en un diseño de bloques completos al azar o en un alfa látice con al menos dos o tres repeticiones. Se utilizarán como testigos las variedades INIAP-Fripapa, INIAP-

Victoria, Superchola y Uvilla, con diferentes niveles de resistencia al tizón tardío y con la calidad requerida para el consumo en fresco y el de procesamiento.

Análisis estadístico:

Para las variables cuantitativas (v.g. rendimiento) previo el análisis estadístico, se verificará la normalidad en la distribución de los datos a través de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov o de Shapiro Wilks. Si la distribución es normal se procederá con un análisis de varianza simple, si la información difiere de la normalidad se realizará una transformación de los datos o se realizará un análisis de varianza no paramétrico (v.g. Friedman).

Cuando se trate de variables cualitativas (ej. vigor, cobertura, senescencia), se reportarán sus promedios, frecuencias o se realizará un análisis estadístico no paramétrico (v.g. Kruskal Wallis, Friedman o componentes principales).

Para el análisis estadístico se sugiere utilizar los paquetes estadísticos R (R_Core_Team, 2013), SPSS (SPSS Inc, 2007) o INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2011). Se sugiere emplear la herramienta para análisis, elaboración de libro de campo y registro de información desarrollada por el CIP denominada "data collector" (<https://research.cip.cgiar.org/confluence/display/GDET4RT/Downloads>).

Manejo en campo:

Se efectuarán las labores recomendadas para el cultivo de papa (Anexo 2).

Criterios de selección:

- Se evaluarán las variables descritas en los Anexos 3, 4 y se incluirá las variables, materia seca, gravedad específica, contenido de azúcares reductores, verdeamiento y dormancia (Anexo 5).
- En función de los criterios de selección se escogerán entre 15-20 clones para las pruebas complementarias de genotipo por ambiente.

5. PRUEBAS PARA MEDIR LA INTERACCIÓN GENOTIPO X AMBIENTE

Los clones seleccionados de las pruebas preliminares serán evaluados en ensayos regionales para medir el efecto de la interacción genotipo x ambiente (GxE). Estos ensayos se realizarán en zonas representativas del cultivo de papa. Se realizarán al menos durante tres ciclos de evaluación consecutivos, se les denominará como ensayos de ciclo 1, 2 y 3.

El objetivo principal de establecer ensayos en varios ambientes como parte del

programa de mejoramiento genético es establecer los efectos de la interacción GxE sobre la expresión de los caracteres de interés para maximizar la respuesta a la selección. Cuando estas interacciones son grandes, complican la selección y reducen la respuesta a la selección en otros ambientes (Cooper and DeLacy, 1994).

Objetivos:

- Evaluar el efecto GxE sobre la expresión de los caracteres relacionados con la resistencia a factores bióticos y abióticos, características agronómicas favorables, calidad para consumo en fresco y procesamiento.
- Seleccionar clones con las características requeridas que presenten un comportamiento estable en los diferentes ambientes.
- Seleccionar clones con las características requeridas que tengan adaptación específica a ambientes.

Ubicación:

Los ensayos estarán ubicados en sitios representativos de las principales provincias productoras de papa del País (Cuadro 3). Se recomienda que los tres ciclos para las pruebas GxE sean realizadas en las mismas zonas.

Cuadro 3. Ubicación sugerida de los ensayos GxE en las principales Provincias productoras de papa en el Ecuador.*

Provincia**	Cantón
Carchi	Montufar, Tulcán
Pichincha	Mejía (EESC, El Rosario, El Chaupi)
Cotopaxi	Latacunga
Tungurahua	Ambato, Quero, Píllaro
Chimborazo	Riobamba, Colta, Guano
Cañar y Azuay**	

* Dependiendo de los objetivos del ensayo y las necesidades de los usuarios las localidades pueden cambiar. Se puede incluir la Provincia de Bolívar.

** Son manejadas directamente por el PNRT-papa de la Estación Experimental del Austro.

Genotipos:

Ciclo 1: Se evaluarán los clones seleccionados de los ensayos de las pruebas preliminares (15-20 clones).

Ciclo 2: Se evaluarán entre 8 – 10 clones seleccionados del primer ciclo.

Ciclo 3: Se evaluarán 4 – 6 clones seleccionados del segundo ciclo.

TIPOS DE ENSAYOS GxE

De acuerdo a los objetivos del programa de mejoramiento los ensayos GxE pueden clasificarse en:

1. Resistencia a tizón tardío:
 - Calidad para consumo en fresco* (alto contenido de antioxidantes, Fe, Zn) y con el ideotipo de papa definido por cada región (Cuesta, 2013).
 - Calidad para procesamiento (hojuelas y bastones) según los parámetros demandados por la industria.* *
2. Resistencia a factores abióticos (déficit hídrico), se sugiere utilizar el protocolo descrito en el material suplementario.

Procedimiento:

Tamaño de las parcelas:

Los clones serán sembrados en un diseño de bloques completos al azar con un mínimo de tres repeticiones, cada parcela consistirá de 4 surcos de 7.5 m de largo, los tubérculos se sembrarán a una distancia de 0.30 m y la parcela neta estará constituida por los dos surcos centrales. En caso de que se presenten dos fuentes de variación en el sitio donde se va a instalar el ensayo se puede utilizar un diseño de cuadrado latino y si no es posible repetir todos los tratamientos en todas las localidades se sugiere utilizar el diseño aumentado (Cotes and Ñustez, 2001).

* En este tipo de ensayo se puede incluir la selección participativa con actores de la cadena en las últimas fases.

* * Se debe considerar la participación de agricultores proveedores de la industria así como de las empresas procesadoras.

Variedades testigo:

Dependiendo del tipo de ensayo se utilizarán como variedades testigo para resistencia al tizón tardío a las variedades susceptibles: Uvilla, Capiro o Superchola, resistentes: INIAP-Libertad, INIAP-Natividad, INIAP-Victoria o INIAP-Estela. Si es para selección por calidad para consumo en fresco dependiendo de la región se puede utilizar Superchola para la zona Norte, INIAP-Gabriela, INIAP-Fripapa para la zona Centro y Bolona, Chaucha amarilla para la zona Sur. Para los ensayos de procesamiento, se puede utilizar Superchola, Capiro, INIAP-Fripapa, INIAP-Victoria, Libertad, Rubí o Unica. Mientras que para los ensayos de tolerancia a factores abióticos (sequía), puede utilizarse INIAP-Estela, INIAP-Natividad y la variedad utilizada en la zona.

Análisis estadístico:

Previo al análisis se tomará en cuenta la distribución de los datos como se describió en la fase previa. Para analizar el efecto (GxE) se realizará un análisis de varianza combinado, considerando los genotipos como factor fijo y los ambientes como factor aleatorio, además se calculará la heredabilidad de los caracteres en el sentido amplio (Holland et al., 2010) y la estabilidad de los genotipos en los diferentes ambientes, (Eberhart and Russell, 1966, Hildebrand, 1984) o a través del estudio de los efectos aditivos y la interacción multiplicativa (AMMI) (Gauch et al., 2008). Para el análisis de la información se sugieren utilizar los programas estadísticos descritos anteriormente.

Criterios de selección:

En todos los ensayos de GxE se evaluarán las variables descritas en los Anexos 3, 4 y 5.

En los ensayos de calidad para consumo en fresco: se evaluarán las variables descritas en el Anexo 7. Esta prueba se la puede hacer en los ensayos de segunda y tercera fase.

En los ensayos de calidad para procesamiento: se evaluarán las variables descritas en el Anexo 6 y para las pruebas de degustación de bastones las descritas en el Anexo 7.

En función de los criterios de selección al final de la tercera fase de selección se escogerán entre 2 - 3 clones.

6. ENSAYOS DE VALIDACIÓN

Los clones seleccionados de las pruebas GxE serán evaluados en los ensayos de validación de tecnología en los cuales dependiendo de los objetivos del programa de mejoramiento se pueden incluir en el proceso a los diferentes actores de la cadena de valor de la papa (agricultores, comerciantes, empresas procesadoras, chefs y consumidores), para lo cual se pueden utilizar las herramientas de investigación participativa (Anexo 8). Los procedimientos de manejo y evaluación de los ensayos serán los descritos en los respectivos protocolos de las Unidades de Transferencia del INIAP.

7. LIBERACIÓN DE LA VARIEDAD

Con la información de los ensayos GxE y los de validación al menos un clon será seleccionado como variedad mejorada, de la cual, previo a su liberación se deberá tener en cuenta los siguientes aspectos:

a) Información técnica que demuestre que la variedad es:

Nueva: No debe haber sido vendida o entregada a terceros durante más de un año con fines comerciales.

Distinta: Se distingue claramente de cualquier otra variedad

Homogénea: Los caracteres morfológicos, agronómicos y de calidad son uniformes, tomando en cuenta el efecto del ambiente sobre la variación de los caracteres

Estable: se considera estable la variedad si sus caracteres se mantienen inalterados después de varios ciclos de reproducción o multiplicación sucesiva. Para mayor detalle ver (www.upov.int).

b) Registro de la variedad en el Instituto Ecuatoriano de la Propiedad Intelectual (IEPI) (www.propiedadintelectual.gob.ec).

c) Inscripción de la variedad en el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) para permitir la producción de semilla por parte de agricultores semilleristas (www.agricultura.gob.ec).

d) Al momento de la liberación se debe contar con al menos 10 toneladas de semilla de calidad de la nueva variedad para su promoción y difusión entre los agricultores.

e) Como se trata de una nueva variedad que no es conocida por los consumidores y comerciantes es necesario contar con un plan de mercadeo y promoción

de la nueva variedad para asegurar su difusión y aceptación por parte de los diferentes actores de la cadena de valor.

8. MANTENIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN DE LA VARIEDAD

El cultivo de papa por su modo de reproducción comúnmente utilizado (tubérculo semilla), presenta limitantes como son: 1) baja tasa de multiplicación comparada con otros cultivos y 2) alto riesgo de contaminación por enfermedades principalmente virus, ante lo cual paralelamente a los ensayos de validación se deben iniciar los procesos de multiplicación acelerada de los clones identificados con potencial de ser variedades.

La multiplicación de semilla se la hará por dos vías: semilla certificada y semilla común.

Producción de semilla certificada

El INIAP utiliza un sistema que integra varias tecnologías: plantas *in vitro*, plantas madres, esquejes, aeroponía, hidroponía y multiplicación en campo.

- El sistema inicia con la producción de plantas *in vitro*.
- Si las plantas *in vitro* se las puede conseguir fácilmente y su costo es razonable, se las puede trasplantar directamente en aeroponía e hidroponía (Ritter et al., 2001).
- Por el contrario, si las plantas *in vitro* son difíciles de conseguir y/o su costo es alto, se las puede usar para producir plantas madre.
- De estas plantas madre se pueden cosechar esquejes, que serán enraizados en bandejas para producir plántulas. Una parte de estas plántulas puede ser trasplantadas directamente en campo, y otra puede ser usada como material de partida para hidroponía y aeroponía (Struik and Wiersema, 1999).
- El manejo sanitario de las plantas madres y de los esquejes debe ser muy cuidadoso, pues una contaminación con patógenos puede poner en riesgo todo el sistema de producción.
- En hidroponía y aeroponía se producirán tubérculos de diferentes tamaños: grandes (>20 g), medianos (5 a 20 g) y pequeños (< 5 g). Además, como un producto secundario, se pueden cosechar esquejes que, luego de ser enraizados en bandejas, pueden ser trasplantados en campo. Esta práctica debe ser realizada con estrictas normas de higiene, para evitar contaminaciones por patógenos y de forma moderada para

no disminuir drásticamente el área foliar y afectar los rendimientos de mini tubérculos.

- Los tubérculos grandes y medianos pueden ser sembrados directamente en campo, mientras que los pequeños pueden ser sembrados en bandejas para producir plántulas que serán trasplantadas en campo.
- La multiplicación en campo de los tubérculos grandes (>20 g) se puede realizar con productores de semilla medianamente tecnificados, con acceso a riego y en zonas con baja probabilidad de eventos como heladas y granizadas. La multiplicación de los tubérculos medianos (5 a 20 g) y de las plántulas, se debería realizar con productores de semilla altamente tecnificados, con acceso a riego, en zonas con baja probabilidad de eventos como heladas y granizadas, y sobre todo con la posibilidad de hacer un manejo muy cuidadoso del cultivo.
- En este sistema se realiza una o máximo dos multiplicaciones en campo. Esto permite tener resultados rápidamente y evita el riesgo de contaminación por patógenos debido a la continua multiplicación en campo.

Una parte de este sistema de producción de semilla es usado por INIAP y la red de semilleros registrados por el MAGAP (plantas *in vitro*, hidroponía, aeroponía y multiplicación en campo), mientras que otra parte (plantas *in vitro*, plantas madre, esquejes y multiplicación en campo) es usada por una empresa privada (Pilvicsa). Actualmente el INIAP cuenta con un invernadero automatizado de alta tecnología con todas las facilidades para producir semilla de categorías iniciales con los más altos estándares de calidad ubicado en la Hacienda El Prado (Sangolquí-Ecuador).

Producción de semilla común

Este método es mucho más sencillo y barato que el anterior, pero las condiciones sanitarias de la semilla pueden ser menores que aquellas de la semilla certificada. Consiste en usar la técnica de selección positiva: seleccionar los mejores campos, las mejores plantas y los mejores tubérculos para ser usados como semilla (Gildemacher et al., 2011, Montesdeoca et al., 2012). Este procedimiento fue aprobado por el MAGAP mediante el Acuerdo Ministerial 494.

Para la multiplicación y/o comercialización de la variedad se podrá otorgar a los interesados una licencia no exclusiva para esta actividad donde el INIAP podrá cobrar un porcentaje como regalía por el uso del material de propiedad de INIAP.

F. BIBLIOGRAFÍA

- BEEKMA, A. & BOUMA, W. 1986. A possible screening technique for drought tolerance in potato. Foundation for agricultural plant Breeding, Wageningen the Netherlands, pp 67 -71.
- BONIERBALE, M., DE HAAN, S. & FORBES, A. 2007. *Procedures for standard evaluation trials of advanced potato clones: An International Cooperators' guide*, Lima, International Potato Center (CIP).
- COOPER, M. & DELACY, I. H. 1994. Relationships among analytical methods used to study genotypic variation and genotype-by-environment interaction in plant breeding multi-environment experiments. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 88, 561-572.
- COTES, J. & ÑUSTEZ, C. 2001. Propuesta para el análisis de Diseños Aumentados en Fitomejoramiento: Un caso en papa. *Revista Latinoamericana de la papa* 12:15-34.
- CRONIN, D. & SMITH, S. 1979. A simple and rapid procedure for the analysis of reducing, total and individual sugars in potatoes. *Potato Research*, 22, 99-105.
- CUESTA, X. 2013. *Potato quality traits: variation and genetics in Ecuadorian potato landraces*. PhD thesis, Wageningen University PhD thesis.
- CUESTA, X., RIVADENEIRA J., PUMISACHO, M., MONTESDEOCA F., VELSQUEZ, J., REINOSO I. & MONTEROS C. 2014. *Manual del cultivo de papa para pequeños productores 2 da Edición*, Quito, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP/Programa Nacional de Raíces y Tubérculos - papa.
- DI RIENZO, J. A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., TABLADA, M. & ROBLEDO, C. W. 2011. InfoStat.
- EBERHART, R. & RUSSELL, W. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science*, 6, 40.
- EKANAYAKE, I. 1993. Evaluación de Resistencia a la sequía en genotipos de papa y batata (camote). Guía de Investigación CIP 19. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 16 pp.
- ESTRADA, N. 2000. *La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa*, La Paz-Bolivia, PROINPA/CID/CIP.
- FALCONÍ, E. 2005. Identification of drought resistance in large seeded common bean genotypes. Submitted to Michigan State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science.
- FISCHER, R. & MAURER, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Crop and Pasture Science*, 29, 897-912.
- FREYRE, R., WARNKE, S., SOSINSKI, B. & DOUCHES, D. S. 1994. Quantitative trait locus

- analysis of tuber dormancy in diploid potato (*Solanum* spp.). *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 89, 474-480.
- GAUCH, H. G., PIEPHO, H.-P. & ANNICCHIARICO, P. 2008. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE: Further considerations. *Crop Science*, 48, 866-889.
- GILDEMACHER, P. R., SCHULTE-GELDERMANN, E., BORUS, D., DEMO, P., KINYAE, P., MUNDIA, P. & STRUIK, P. C. 2011. Seed potato quality improvement through positive selection by smallholder farmers in Kenya. *Potato Research*, 54, 253-266.
- GÓMEZ, R. 2000. Guía para las Caracterizaciones Morfológicas Básicas en Colecciones de Papa. Lima: Centro Internacional de la papa.
- GRUNENFELDER, L., HILLER, L. K. & KNOWLES, N. R. 2006. Color indices for the assessment of chlorophyll development and greening of fresh market potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 73-81.
- HELLENÄS, K.-E. 1986. A simplified procedure for quantification of potato glycoalkaloids in tuber extracts by H.p.l.c.; comparison with ELISA and a colorimetric method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 776-782.
- HILDEBRAND, P. E. 1984. Modified Stability Analysis of Farmer Managed, On-Farm Trials 1. *Agron. J.* 76:271-274.
- HOLLAND, J. B., NYQUIST, W. E. & CERVANTES-MARTÍNEZ, C. T. 2010. Estimating and Interpreting Heritability for Plant Breeding: An Update. *Plant Breeding Reviews*. John Wiley & Sons, Inc.
- HUAMAN, Z. & SPOONER, D. M. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *Am. J. Bot.*, 89, 947-965.
- MALAGAMBA, P. & CABELLO, R. 1996. Producción de semilla sexual de papa en: Manual de producción con semilla sexual. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima. Fasc. 2.1. 10 p.
- MONTEROS, A. 2011. *Potato landraces: description and dynamics in three areas of Ecuador*. PhD Thesis, Wageningen University.
- MONTESDEOCA, F., PANCHI, N., PALLO, E., YUMISACA, F., TAPE, A., MERA, X., ESPINOZA, S. & ANDRADE-PIEDRA, J. 2012. Produzcamos nuestra semilla de papa de buena calidad-Guía para agricultoras y agricultores. *Centro Internacional de la papa (CIP), Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Consorcio de Pequeños Productores de Papa (CONPAPA), McKnight Foundation*. Quito, Ecuador, 82.
- NIKS, R. E., PARLEVLIT, J., LINDHOUT, P. & BAI, Y. 2011. *Breeding crops with resistance to diseases and pests*, Wageningen Academic Publishers.
- ORILLO, M. & BONIERBALE, M. 2009. Biología reproductiva y citogenética de la papa -

Manual Técnico. Centro Internacional de la Papa (CIP) 44 pp.

OYARZÚN, P., GALLEGOS, P., ASAQUIBAY, C., FORBES, G., OCHOA, J., PAUCAR, B., PRADO, M., REVELO, J., SHERWOOD, S. Y YUMISACA, F 2002. Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. In: Pumisacho, M. y Sherwood, S. (eds.). El cultivo de la papa en el Ecuador. Quito. INIAP, CIP. 85-169.

R_CORE_TEAM 2013. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RITTER, E., ANGULO, B., RIGA, P., HERRAN, C., RELLOSO, J. & SAN JOSE, M. 2001. Comparison of hydroponic and aeroponic cultivation systems for the production of potato minitubers. *Potato Research*, 44, 127-135.

ROSSOUW, F. & WAGHMARAE, J. 1995. The effects of drought on growth and yield of two South African potato cultivars. *South African Journal of Science* 91: 149-150.

SALAS, A., TAY, D. & JUÁREZ, H. 2010. Recursos Genéticos de la papa en el Perú y el Mundo. In: XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de la papa ALAP 2010, INIA, Cusco-Perú p. 51.

SCHAART, J. G. & VISSER, R. G. F. 2009. Novel plant breeding techniques. Consequences of new genetic modification-based plant breeding techniques in comparison to conventional plant breeding.

SPSS INC 2007. SPSS Base 16.0 for Windows. SPSS Inc., Chicago IL.

STRUIK, P. & WIERSEMA, S. 1999. *Seed potato technology*.

VAN DE WIEL, C., SCHAART, J., NIKS, R. & VISSER, R. 2010. Traditional plant breeding methods. *Wageningen, The Netherlands: Wageningen UR*.

VLEESHOUWERS, V. G. A. A., VAN DOOIJEWERT, W., PAUL KEIZER, L. C., SIJPKES, L., GOVERS, F. & COLON, L. T. 1999. A Laboratory Assay for *Phytophthora infestans* Resistance in Various *Solanum* Species Reflects the Field Situation. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 241-250.

WERIJ, J., KLOOSTERMAN, B., CELIS-GAMBOA, C., DE VOS, C., AMERICA, T., VISSER, R. & BACHEM, C. 2007. Unravelling enzymatic discoloration in potato through a combined approach of candidate genes, QTL, and expression analysis. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 115, 245-252.

G. ANEXOS

ANEXO 1. RECOMENDACIONES PARA LA UBICACIÓN DE LOS ENSAYOS

Para la ubicación del ensayo se deberá tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Tamaño y forma del lote: debe ser el adecuado dependiendo del número de tratamientos y el de repeticiones. Se deben evitar pendientes muy pronunciadas y altitudes superiores a los 3,400 m. En terrenos con pendientes superiores al 20% se deben implementar prácticas de conservación de suelos para mitigar los efectos de la erosión.
- Se debe contar con información histórica del lote en relación a los cultivos previos y la presencia de patógenos.
- Se debe evitar el uso de terrenos en zonas de anegamientos o con exceso de humedad.
- El ensayo de preferencia debe estar ubicado en un sitio con poca probabilidad de heladas (ligera pendiente o protegido por barreras vivas). Si es un sitio con déficit hídrico durante el ciclo deberá tener riego.
- Se recomienda que el terreno tenga facilidades de acceso para el transporte de insumos, materiales y personal que labora.
- El lote seleccionado no debe ubicarse en ecosistemas frágiles o en zonas de patrimonio natural.
- Debe ser representativo de la zona.

ANEXO 2. MANEJO AGRONÓMICO DEL ENSAYO*

- En campos de agricultores donde exista evidencia de ataque de gusano blanco de ser posible un mes antes de la siembra y hasta la emergencia de las plantas colocar trampas para gusano blanco y cambiarlas cada 15 días según lo descrito en (Oyarzún, 2002).
- Se deberá utilizar tubérculos-semilla de buena calidad que posea las condiciones adecuadas físicas, fisiológicas y sanitarias. La semilla debe desinfectar antes de su almacenamiento para lo cual se utilizará Iprodione, Pencycuron, Azoxystrobina o Fludioxonil. Debe almacenarse en sacos ralos o gavetas en un lugar limpio, seco, bien ventilado y con luz difusa.
- La siembra se realizará a una densidad de 0.30 m entre plantas y 1.00 – 1.20 m entre surcos.
- La fertilización se realizará de acuerdo a la recomendación del análisis de suelo **más un 50% adicional**.
- Para el control de malezas en caso de no existir la mano de obra se recomienda aplicar herbicidas post emergentes a los 8 días después de la siembra como Diuron 8.5gr/l o Sencor 0.35kg/ha.
- Al 50% de emergencia para prevenir las infecciones primarias de tizón tardío y darles la oportunidad a todas las plantas para que tengan un normal desarrollo inicial se recomienda aplicar una vez fungicidas de contacto. Si las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de *P. infestans*, se recomienda iniciar las aplicaciones con fungicidas sistémicos (máximos por tres ocasiones) este manejo se recomienda para los ensayos de resistencia a tizón tardío; en caso de otros ensayos realizar las respectivas estrategias de control tomando en cuenta las condiciones climáticas y el nivel de resistencia de los genotipos.
- Dependiendo del desarrollo de las plantas se debe realizar un primer aporque a la 4ta o 5ta semana después de la emergencia, adicionalmente se debe realizar la fertilización complementaria (Urea más Sulpomag). Las labores culturales restantes se realizarán de acuerdo a lo acostumbrado en cada zona (rascadillos, segundo aporque).
- Si es necesario se debe controlar insectos utilizando los insecticidas acefato, triflumuron, diflubenzuron o profenofos durante el ciclo del cultivo.

* Para mayor información ver Manual del cultivo de papa No.178 (Cuesta et al., 2014)

Nota: Todas las actividades del manejo agronómico se deben registrar por fechas en el formato del Anexo 10.

ANEXO 3. VARIABLES ANTES, DURANTE Y DESPUÉS DE LA FLORACIÓN

- 1. EMERGENCIA:** Entre los 40 – 50 días después de la siembra (dds) se contará el número de plantas emergidas en relación al número de plantas sembradas y se expresará el valor en porcentaje.
- 2. SEVERIDAD DE TIZÓN TARDÍO:** Las lecturas de la severidad se iniciarán a partir de la cuarta o quinta semana después de la emergencia. La primera lectura se debe realizar antes del inicio de la enfermedad o cuando se observen los primeros síntomas. Se recomienda evaluar la severidad del tizón tardío cada siete días en la unidad experimental, si la enfermedad avanza rápidamente se puede acortar el tiempo a 4 días y si avanza lentamente cada 10 a 14 días mediante una apreciación visual se registrará el porcentaje de área foliar afectada, es decir la cantidad de follaje (hojas y tallos) que presentan lesiones de la enfermedad comparada frente a la totalidad de la planta. Se utilizará la escala del CIP (Anexo 9). Se recomienda realizar las lecturas en las primeras horas de la mañana y de preferencia siempre deberá hacerlo la misma persona a la misma hora. Finalmente la severidad será expresada en valores de área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) para cada tratamiento, estos valores de AUDPC se calcularán con las lecturas obtenidas en un ciclo de evaluación, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{AUDPC} = [L1 + 2(L2+L3+\dots+Ln-1) + Ln] \times t/2$$

En donde:

L = Lectura (expresada en porcentaje)

Ln = Última lectura

Ln-1 = Penúltima lectura

t = Tiempo entre lecturas

Nota: Fórmula utilizada siempre y cuando el tiempo entre lecturas sea el mismo, o también se puede utilizar el promedio entre lecturas.

- 3. VIGOR:** se evaluará entre los 60 -80 días. Para calificar se utilizará la siguiente escala:

Escala	Estado	Descripción
1	Muy débil	Todas las plantas son pequeñas (<20cm), pocas hojas, plantas débiles, tallos muy delgados y/o color verde claro
3	Débil	75% de las plantas son pequeñas (<20cm) o todas las plantas son entre 20 y 30 cm, las plantas tienen pocas hojas, tallos muy delgados y/o color verde clara
5	Intermedio	Intermedio o normal
7	Vigoroso	75% de las plantas tienen más de 50cm, robustas, con follaje color verde oscuro, tallos gruesos y hojas muy desarrolladas
9	Muy vigoroso	Todas las plantas son de más de 70 cm y la cobertura del suelo es completa. Las plantas son robustas, con tallos gruesos y abundante follaje color verde oscuro

4. COBERTURA DE PLANTA (Llenado del surco): al igual que vigor de planta se evaluará entre los 60-80 días después de la siembra, mediante la siguiente escala tomando en cuenta la cobertura del surco con el follaje de la planta:

1. Regular: hasta el 50% de cobertura del surco
2. Bueno: entre el 50 al 75% de cobertura
3. Muy Bueno: >75% de cobertura

5. HÁBITO DE PLANTA: se evaluará conjuntamente con las dos variables anteriores, con la siguiente escala, tomando en cuenta el ángulo de desarrollo de los tallos con respecto al suelo:

Escala	Estado	Descripción
1	Erecta	Los tallos son casi verticales y el ángulo de inserción entre el raquis de la hoja y el tallo principal es alrededor de 30°
2	Semi-erecta	Los tallos tienen más o menos crecimiento vertical, pero algunos tallos secundarios son más abiertos y la hoja con el tallo principal forman un ángulo de 45°
3	Decumbente	Los tallos están más abiertos y se abren al llegar al suelo. El ángulo de inserción está entre 60° a 90°

6. NÚMERO DE TALLOS POR PLANTA: al mismo tiempo que las variables anteriores se contará el número de tallos por planta tomando una muestra de 10 plantas de la parcela neta y se reportará la moda.

7. MADUREZ DE LA PLANTA:

Es el síndrome de varios caracteres que comprenden elementos tales como: 1) Floración (actividad de los meristemas apicales), 2) Senescencia (cambio de coloración del follaje) y 3) Presencia de acame de las plantas.

Esta variable como sus componentes se evaluarán a los 90, 120 y 150 dds:

1. FLORACIÓN: Para facilitar la determinación de esta variable se utilizará la siguiente escala:

- 1= No hay botones
- 2= Botones inician inchamiento
- 3= 25% de flores abiertas
- 4= 50% de las flores abiertas
- 5= 75% de las flores abiertas
- 6= Floración completa
- 7= 75% de las flores caídas

2. SENESCENCIA: Se utilizará la siguiente escala:

- 1= Plantas verdes
- 2= Hojas superior con los primeros signos de amarillamiento
- 3= Hojas amarillentas
- 4= 25% del tejido foliar café
- 5= 50% del tejido foliar café
- 6= Mas del 75% del follaje café
- 7= Planta muerta

3. ACAME: Se empleará la siguiente escala

- 1= No hay acame
- 2= Acame

En función de los componentes de la madurez se calificará a la planta como:

- 1= Precoz
- 5= Intermedia
- 9= Tardía

Nota: Para el registro de estas variables se recomienda utilizar el formato del Anexo 14.

ANEXO 4. VARIABLES A LA COSECHA

1. MADUREZ DEL TUBÉRCULO: se determinará frotando la piel de los tubérculos y se observará si hay desprendimiento de la epidermis, se expresará en número de días transcurridos después de la siembra.

1= Muy precoz (menor a 120 días)

2= Precoz (120-139 días)

3= Intermedio (140-159 días)

4= Tardío (160-180 días)

5= Muy tardío (mayor a 180 días)

2. NÚMERO DE PLANTAS COSECHADAS: se contará el número de plantas cosechadas en cada parcela neta por tratamiento.

3. NÚMERO Y LARGO DE ESTOLONES: Consiste en una evaluación general del número y largo de los estolones basados en una inspección de la plantas cosechadas y se propone utilizar las siguientes escalas:

Número de estolones

Valor	Estado	Descripción
1	Muy pocos	Plantas sin estolones o muy pocos (0-4)
3	Pocos	Plantas con 5 a 10 estolones
5	Medio	Plantas con 11 a 15 estolones
7	Alto	Plantas con 16 a 25 estolones
9	Muy alto	Plantas con más de 25 estolones

Largo de estolones

Valor	Estado	Descripción
1	Muy corto	$X \leq 20$ cm de largo
3	Corto	$20 \text{ cm} < X \leq 40 \text{ cm}$ de largo
5	Medio	$40 \text{ cm} < X \leq 60 \text{ cm}$ de largo
7	Largo	$60 \text{ cm} < X \leq 80 \text{ cm}$ de largo
9	Muy largo	$X > 80$ cm de largo

4. NÚMERO Y PESO DE TUBÉRCULOS POR PLANTA.- se tomarán los datos de todas las plantas en competencia perfecta de la parcela neta, se registrará la información del número de tubérculos por planta y su peso en kilogramos por planta.

5. UNIFORMIDAD DE TUBÉRCULOS: consiste en una evaluación general de la

uniformidad basada en una inspección de los tubérculos cosechados utilizando una escala de 1 a 9.

Escala de uniformidad de tubérculos

Valor	Estado	Descripción
1	Muy heterogéneo	Todos los tamaños de tubérculo están presentes
3	Heterogéneo	Todos los tamaños de tubérculo presentes pero hay uno predominante
5	Intermedio	Solo hay 2 o 3 tubérculos con tamaño predominante
7	Uniforme	Solo dos tamaños son predominantes
9	Muy uniforme	Solo un tamaño de tubérculo

6. TAMAÑO DE TUBÉRCULO: se utilizará la siguiente escala:

Valor	Estado	Descripción
1	Muy pequeño	La mayoría de tubérculos (< 2 cm)
3	Pequeño	Tubérculos entre 2 a 4 cm
5	Medio	Tubérculos entre 4 a 6 cm
7	Grande	Tubérculos entre 6 a 9 cm
9	Muy grande	Tubérculos > 9 cm

7. RENDIMIENTO TOTAL: se realizará la cosecha de cada tratamiento por repetición y se pesará, los tubérculos obtenidos se dividirán en cuatro categorías: 1) comercial (tubérculos > 90 g), 2) primera (60-90 g), 3) segunda (30 a 60 g) y 4) fina (< 30 g o con daños o deformaciones). Se registrará cada categoría y el resultado se expresará en kg por parcela neta o en toneladas por hectárea.

Para los ensayos de papa para procesamiento se considerará las siguientes categorías: 1) comercial (tubérculo > 170 g o diámetro mayor a 7 cm), 2) primera (80 a 170 g o diámetro entre 5.5 a 7 cm), 3) segunda (30 a 90 g) y 4) fina (< 30 g o con daños y deformaciones).

Nota: Todas las variables anteriores se registran en el formato del Anexo 15.

8. OTRAS EVALUACIONES: En una muestra de tubérculos por clon, se deben cortar transversalmente y evaluar para:

Efectos externos, tales como rajados, con crecimiento secundario, sarna.

Problemas internos como corazón hueco, manchas negras, necrosis, pudrición. Al final se deberá registrar el porcentaje de tubérculos afectados

ANEXO 5. VARIABLES DE CALIDAD EN POST-COSECHA

En el **Cuadro 4** se describen las cantidades de tubérculos necesarias para las respectivas evaluaciones y el tiempo para la evaluación para las diferentes variables relacionadas con la calidad del tubérculo.

Cuadro 4. Variables y tiempos de evaluación en post-cosecha

Variables	Número/peso de tubérculos	Tiempo después de la cosecha
Materia seca y gravedad específica	0.5-1.0 kg	24 -72 horas
Rendimiento de hojuelas y bastones	3-5 kg	15, 30 y 40 días
Calidad de cocción	3-6 tubérculos	15 días
Azúcares reductores	3-6 tubérculos	15 días y 2 meses
Número de brotes	5 tubérculos	45 días
Pérdida de peso	5 tubérculos	3 meses
Verdeamiento	20 tubérculos	24 horas (inicio)

PROCEDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN DE VARIABLES DE CALIDAD

1. MATERIA SECA:

Materiales

- Estufa
- Balanza en gramos
- 0.5-1.0 kg de tubérculos libres de enfermedades
- Cajas metálicas o fundas de papel

Procedimiento

1. Cortar en hojuelas 5 tubérculos o en pequeños cuadrados, mezclar completamente y tomar una muestra de aproximadamente 200 gramos.
2. Colocar el recipiente metálico o la funda de papel sobre una balanza y encerar, determinar el peso exacto de cada muestra y registrar el peso fresco.
3. Colocar en una estufa a 80 °C por 72 horas o hasta tener un peso seco constante.
4. Pesar cada muestra inmediatamente y registrar el peso seco.

5. Calcular el porcentaje de materia seca de cada muestra, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Materia seca} = (\text{Peso seco} / \text{Peso fresco}) \times 100$$

2. GRAVEDAD ESPECÍFICA:

Para determinar la gravedad específica se utilizan dos métodos: el método de peso en aire/peso en agua y el método del hidrómetro, los tubérculos utilizados deben ser uniformes (tamaño y peso), libres de enfermedades, sin tierra. Se recomienda lavarlos.

Método de peso en aire/peso en agua

1. Colocar una cesta de metal sobre una balanza y encerar.
2. Colocar 4 kg de papas de tamaño comercial en la cesta y registrar el peso en aire.
3. Sumergir una cesta de metal con las papas en agua y pesar otra vez, registrar el peso en agua.
4. Calcular la gravedad específica utilizando la siguiente fórmula:
G. E = peso en aire/peso en agua - peso en agua

Método del hidrómetro

1. Para calibrar el hidrómetro se debe colocar la tara metálica en el gancho de la canasta, sumergirlos en un recipiente (de al menos 36 cm de diámetro por 66 cm de profundidad) que contenga alrededor de 132 litros de agua, luego enganchar el hidrómetro al cesto y dejarlo que flote libremente, girar el botón rojo hasta que la línea roja de marca del hidrómetro (marcada con el valor 1.070) este a nivel del agua (girar en el sentido de las agujas del reloj para subir, y para bajar en sentido contrario). El agua debe estar a 16.5 °C.
2. Quitar la tara metálica del cesto que se usó para calibrar.
3. Colocar un peso exacto de 3629 gramos de papa de tamaño comercial en la canastilla de metal (una papa puede ser cortada para obtener el peso exacto).
4. Sumergir la canasta con las papas en el agua con una mano y conectar el hidrómetro con la otra mano y dejarlo flotar libremente y registrar los datos de gravedad específica y materia seca.
5. Recordar que el hidrómetro es un equipo sensible y frágil nunca permita que el extremo rojo del hidrómetro se sumerja en el agua, y que el cesto cuelgue del hidrómetro con una mano.

Nota: Las variables de materia seca y gravedad específica se registrarán en el formato del Anexo 16.

3. AZÚCARES REDUCTORES:

Los tubérculos cosechados serán almacenados a 4 °C por dos meses. Después del almacenamiento una muestra de 3-4 tubérculos por tratamiento serán lavados, pelados y liofilizados, en los cuales se determinará el contenido de azúcares reductores según lo descrito en (Cronin and Smith, 1979). Los resultados se expresarán en porcentaje.

4. CONTENIDO DE GLICOALCALOIDES:

Los tubérculos completos de cada repetición y tratamiento serán molidos, liofilizados y almacenados a -20 °C en nitrógeno líquido previo a la extracción y análisis. Para cada muestra se realizará el procedimiento en duplicado.

El contenido total de glicoalcaloides será medido de acuerdo al método reportado por (Hellenäs, 1986), con pocas modificaciones del Departamento de Nutrición y Calidad del INIAP. Para la cuantificación se utilizará el método colorimétrico la lectura se realizará a 408 nm, y se determinará en base a la curva de -solanina (50-400µg). El resultado se expresará como contenido total de glicoalcaloides (TGA) en mgTGA.100 g⁻¹ de peso fresco.

5. DECOLORACIÓN ENZIMÁTICA

Para la evaluación de la Decoloración Enzimática (ED) una muestra aleatoria de 2-3 tubérculos de papas frescas de cada tratamiento y repetición del campo será pelada, cortada en rodajas. Estas serán colocadas en cajas petri a temperatura ambiente y en duplicado. El grado de decoloración ED se medirá a los 30 y 180 min según escala (0-8) donde 0 es no decoloración y 8 completamente café/negro según lo descrito en (Werij et al., 2007).

6. CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES:

En lo que se refiere a antioxidantes se evaluará el contenido de polifenoles, carotenoides, antocianinas y vitamina C, para lo cual 0.5 kg de tubérculos de cada tratamiento por repetición se enviarán al laboratorio de Nutrición y Calidad del INIAP para sus análisis.

7. CONTENIDO DE HIERRO Y ZINC:

A la cosecha se tomará una muestra de 1.0 kg de cada genotipo por repetición y por localidad libre de patógenos será lavada, secada y colocada en una funda de

papel y se enviará al laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) del INIAP para su análisis.

Nota: Las variables de materia seca y gravedad específica se registrarán en el formato del Anexo 16.

8. VERDEAMIENTO:

Tubérculos de cada tratamiento y repetición del ensayo de campo serán colocados en una bandeja plástica, las mismas que serán ubicadas en el invernadero (temperatura promedio 16°C) y 12 horas de luz. La mitad de la bandeja será cubierta para tener un control. En una muestra de 20 tubérculos se evaluará el verdeamiento en superficie y en profundidad semanalmente para lo cual se utilizará la escala descrita en (Grunenfelder et al., 2006).

9. DORMANCIA:

Una muestra de tubérculos de cada tratamiento y repetición del ensayo de campo será colocada en una bandeja y almacenada en la bodega. Para evaluar la dormancia se tomará una muestra de veinte tubérculos de cada tratamiento y se evaluará semanalmente el largo del brote hasta que esta alcance un largo de 2 mm según lo descrito por Freyre et al., (1994).

Nota: Las variables de verdeamiento y dormancia se registrarán en el formato del Anexo 18.

10. PRESENCIA DE ENFERMEDADES Y DAÑOS FISIOLÓGICOS EN TUBÉRCULOS ALMACENADOS

Durante el periodo de almacenamiento de los tubérculos se debe monitorear la presencia de enfermedades como pudriciones húmedas, secas, presencia de esclerocios, sarna, etc., se debe indicar el número de tubérculos afectados, los mismos que deberán ser destruidos para evitar contaminación. Además se debe considerar la presencia de tubérculos con problemas fisiológicos como rajaduras, deformaciones y corazón hueco los cuales también deben ser eliminados.

ANEXO 6. PRUEBAS DE FRITURA

Dentro del área de mejoramiento para procesamiento, los clones con características agronómicas y de resistencia a enfermedades serán sometidos a pruebas de fritura en hojuelas y bastones. Protocolo tomado de (Bonierbale et al., 2007) y adaptado por el PNRT-papa.

1. PORCENTAJE DE HOJUELAS QUEMADAS:

1. Seleccionar 5 tubérculos comerciales sanos.
2. Pelar los tubérculos en la peladora tomar el tiempo hasta que el 90% de los tubérculos estén pelados. Repelar y sacar los ojos con un cuchillo.
3. Cortar las hojuelas con un espesor de 1.6 mm y seleccionar 10 hojuelas por tubérculos que no presenten daños y descartar el resto.
4. Lavar las hojuelas hasta eliminar los residuos de almidón hasta que el agua este transparente. Si no se elimina bien el almidón las hojuelas se queman.
5. Las hojuelas hasta el momento de freírse deben mantenerse en agua, para evitar que se oxiden, antes de freír se debe colocar las hojuelas sobre papel absorbente y secar por 2 minutos con aire caliente (secador pelo alta potencia).
6. Freír las hojuelas en aceite a una temperatura de 175 °C con una tolerancia +/- 5 °C hasta que deje de burbujear (aproximadamente 2.5 minutos).
7. Escurrir el aceite y dejar enfriar.
8. Evaluar el color de las hojuelas en base a la escala de color propuesta por el PNRT-Papa, donde 1 = hojuelas sin ninguna mancha o pardeamiento; 2 = hojuelas con ligero pardeamiento marrón claro; 3 = hojuelas con ligero pardeamiento marrón claro y con pocas manchas de color marrón oscuro con diámetro menor o igual a 0.5 cm; 4 = hojuelas pardas con varias manchas marrón oscuro periféricas o centrales de diámetro mayor a 0.5 cm y menor a 1.8 cm y 5 = hojuelas pardas con manchas marrón oscuro intenso periféricas o centrales de diámetro igual o mayor de 1.8 cm.
9. Calcular el porcentaje de hojuelas buenas.

Nota: Una variedad apta para hojuelas debe tener un máximo del 20% de hojuelas quemadas.

2. PORCENTAJE DE BASTONES QUEMADOS:

1. Seleccionar y pesar 6 tubérculos comerciales sanos, con un largo mayor a 8 cm (diámetro menor del tubérculo).
2. Pelar los tubérculos en la peladora tomar el tiempo hasta que el 90% de

- los tubérculos estén pelados. Repelar y sacar los ojos con un cuchillo.
3. Cortar los bastones de 1 cm, seleccionar, clasificar y pesar los bastones por tamaño según las siguientes categorías: primera (mayor a 8 mm de largo); segunda (entre 5 a 8 cm) y desecho (menor a 5 cm).
 4. Seleccionar y pesar 10 bastones de primera que no presenten daños de cada tubérculo para las pruebas de fritura.
 5. Lavar los bastones hasta eliminar los residuos de almidón.
 6. Los bastones hasta el momento de freírse deben mantenerse en agua, para evitar que se oxiden, antes de freírse se debe colocar los bastones sobre papel absorbente y secar por 2 minutos con aire caliente (secador pelo alta potencia).
 7. Primera fritura: Freír los bastones en aceite a una temperatura de 150 °C por 4 minutos. con una tolerancia +/- 5 °C (100 g bastones / 5 litros de aceite).
 8. Escurrir el aceite por 2 minutos, colocar los bastones pre-fritos sobre papel absorbente y secar el exceso de aceite. Pesar y empacar los bastones en las bandejas de espumaflex y cubrir con papel film y dejar en congelación por 24 horas.
 9. Segunda fritura: realizar la fritura final a 180 °C por 2.5 minutos.
 10. Escurrir el aceite por 2 minutos.
 11. Pesar y evaluar el color de los bastones en base a la escala de color propuesta por el PNRT-Papa según la siguiente escala: 1 = bastones sin ninguna mancha o pardeamiento; 2 = Bastones con ligero pardeamiento marrón claro; 3 = Bastones con ligero pardeamiento marrón claro y con pocas manchas de color marrón oscuro con diámetro menor o igual a 0.5 cm (menor al 25% del bastón); 4 = bastones con varias manchas marrón oscuro de diámetro mayor a 0.5 cm y menor a 1.8 cm (25 al 50% del bastón); y 5 = Bastones pardos con manchas marrón oscuro intenso de diámetro igual o mayor de 1.8 cm.

Nota: Una variedad apta para bastones, debe tener un máximo de bastones malos del 20 %.

ANEXO 7. EVALUACIONES SENSORIALES:

Estas pruebas se realizarán de preferencia con consumidores urbanos

1. Prueba de degustación de bastones

1. Para esta evaluación se fríen los bastones siguiendo el procedimiento anterior.
2. Una vez listos los bastones se colocan en bandejas debidamente codificados para entregárselas al panel de degustación.
3. Entregar los formatos de evaluación (Anexo 19).
4. En la evaluación cada miembro del panel evalúa color, crocancia, consistencia y sabor para determinar si una variedad es buena o no para bastones.

2. Prueba de degustación de papas cocinadas

La evaluación comprende color, textura y sabor de las papas cocinadas, se deben incluir variedades buenas y malas en calidad culinaria para comparar.

1. Seleccionar de 3 a 6 tubérculos comerciales, libres de enfermedades y lavarles para que queden limpios.
2. Cocinar los tubérculos seleccionados.
3. Revisar si los tubérculos ya están listo y registrar el tiempo de cocción.
4. Después de cocinar colocarlas en unas bandejas, codificarlas y pasarlas al panel de degustación con sus respectivos formatos de evaluación (Anexo 19).

ANEXO 8. EVALUACIÓN CON ACTORES DE LA CADENA DE VALOR

Dependiendo del objetivo del programa de mejoramiento se puede **en algunos casos** incluir el criterio de los actores de la cadena de valor en las fases de **validación** del esquema de mejoramiento (**Figura 1**). El peso de los criterios de los actores en la selección final de los clones lo definirán los fitomejoradores en función de los objetivos del ensayo, la experiencia de los evaluadores y la importancia de los caracteres evaluados. Las evaluaciones sensoriales deberán realizarse con consumidores urbanos **NO** con agricultores.

a. Evaluación participativa con los actores de la cadena de valor

Se considerarán como los principales actores de la cadena a los agricultores comerciantes, empresas procesadoras, chefs y consumidores

Se realizarán en las siguientes etapas:

- 1) Floración: Los criterios de selección en esta etapa principalmente están basados en la cobertura, vigor, resistencia a enfermedades principalmente.
- 2) Cosecha: Considerada por los agricultores la más importante, sus criterios de selección se basan en el rendimiento, forma, tamaño, color de piel y pulpa del tubérculo, y profundidad de ojos principalmente.
- 3) Calidad culinaria: Aquellos clones con mayor aceptación serán preparados como papas hervidas y papas fritas tipo hojuelas o bastones, con el objetivo de conocer su aceptación o rechazo por parte de los consumidores urbanos.

b. La entrevista de evaluación:

Se realizará con los diferentes actores para medir la aceptación de los clones

Se emplearán las siguientes herramientas:

1) Calificación escrita:

Se registrarán los clones escogidos en orden de mérito según las frecuencias de selección, esto se lo realizará en las etapas iniciales.

2) Evaluación abierta:

Es un método para captar y consignar las reacciones espontáneas de los productores a la tecnología, sin usar preguntas directas. Es un primer paso hacia el desarrollo de un formato de entrevista más elaborado.

3) Evaluación absoluta:

El productor manifiesta su agrado o desagrado por tal o cual clon, la matriz utilizada para esta evaluación tiene 3 categorías que califican al tratamiento como bueno, regular o malo, asignándole a cada uno un puntaje de 5, 3, 1 respectivamente. En el casillero se consigna el criterio que el agricultor tiene para darle tal o cual calificación (Anexo 20).

Con esta información en el formato de puntajes de evaluación absoluta se registrarán los tratamientos con los respectivos puntajes, así como el ordenamiento.

Esto se lo realizará en etapas avanzadas del proceso de selección, se sugiere en la fase de validación.

Anexo 9.

ESCALA PARA LA ESTIMACIÓN DEL TIZÓN TARDÍO EN EL FOLLAJE

Porcentaje de infección	Síntomas
0	No se observa enfermedad
0.1	Unas pocas plantas dispersas con tizón
1	Sobre 10 manchas por planta o una ligera infección
5	Aproximadamente unas 50 manchas más de una mancha en los folíolos
25	Casi cada foliolo infectado, pero las plantas mantienen la forma normal. El campo parece verde aunque existen plantas afectadas.
50	Cada planta está afectada, con el 50% del área foliar destruida, el campo parece verde con espacios café.
75	Con el 75% del área foliar destruida, en el campo se aprecia un color predominante café.
95	Únicamente se ven pocas hojas en las plantas, pero los tallos son verdes.
100	Todas las hojas están muertas, los tallos muertos o secándose.

Fuente: Bonierbale et al., (2007)

Anexo 10. Formato de registro de actividades

Fecha	Actividades	Responsable

ANEXO 11. Formato Evaluación, fase emergencia, floración madurez de las primeras generaciones clonales

GENERACIÓN CLONAL: _____

Fecha de Siembra: _____

Parcela	No de clon	No Plantas emergidas	Tipo de planta	Selección de follaje	Tizón	Roya	Rhiz	Oidio	Virus	Alter-naria	Pat. suelo	Otro	Fecha de Madurez	Otras observaciones

ANEXO 12. Formato Evaluación, caracterización morfológica de la planta

GENERACIÓN CLONAL: _____

Fecha de Siembra: _____

Parcela	Clon	Hábito crecimiento	Forma hoja	Color tallo	Forma alas	Grado floración	Forma corola	Color Flor	Pigmentación anteras	Pigmentación pistilo	Color cáliz	Color pedicelo	Color baya	Forma baya	Madurez

ANEXO 13. Formato Evaluación, fase cosecha

GENERACIÓN CLONAL: _____

Fecha de Cosecha: _____

Parcela	Clon	Plantas cosechadas	Tub/planta	Rendimiento planta/parcela	Selección de tubérculo	Forma	Color de pulpa	Color de piel	Color brote	Otras observaciones

Anexo 15. Formato de Evaluación, fase cosecha

FECHA DE SIEMBRA: _____

FECHA DE COSECHA: _____

Parcela	Clon	Plantas cosechadas	Madurez del tubérculo	Tubérculos por planta	Rendimiento por planta (kg)	Comercial (kg)	Primera (kg)	Segunda (kg)	Tercera (kg)	Total kg/pn	Rendimiento t/ha	Observaciones

Anexo 16. Formato de Evaluación, fase pos cosecha. Determinación del contenido de sólidos en los tubérculos

Clon	Determinación del Porcentaje Materia Seca					Método del peso en aire/peso en agua			Método del hidrómetro
	Peso del Recipiente	Peso Fresco	Peso del Recipiente	Peso Seco	Porcentaje de Materia Seca	Peso en aire	Peso en agua	Gravedad específica	Gravedad específica

Anexo 17. Formato de Evaluación, fase pos cosecha. Contenidos nutricionales y anti nutricionales tubérculo

FECHA DE COSECHA: _____

FECHA DE ANÁLISIS: _____

Clon	Rep	Glicoalcaloides	Decoloración Enzimática	Azúc. Red.	Contenido de Fe	Contenido de Zn	Carotenoides	Polifenoles	Antocianinas	Vit. C	Observaciones

Anexo 18. Formato de Evaluación, fase pos cosecha, almacenamiento.

Clon	Repet	Brotación						Verdeamiento						Peso (g)	
		L1	L2	L3	L4	L5	L6	L1	L2	L3	L4	L5	L6	Inicial	Final

L1 = Lectura 1. Registrar las fechas

Anexo 19. Formato de Evaluación, fase pos cosecha

HOJA DE CALIFICACIÓN DE PAPA FRITA

Número de Prueba: _____ Panelista _____ Fecha: _____

Para cada muestras y factor de calidad, indique su evaluación marcando una cruz (X) en el cuadrado adecuado (columna según el número de la muestra, fila según el valor). Evalúe primero la apariencia externa de TODAS las muestrsas antes de evaluar las demás características.

Características	Número de muestras						
Apariencia externa (del tubérculo entero)							
Excelente							
Muy bueno							
Bueno							
Regular							
Malo							
Coloración externa (en muestras estrujadas)							
Claro, blanquecino							
Dorado claro							
Dorado							
Ligeramente marrón							
Oscuro							
Coloración interna (parta en dos la papa frita)							
Brillante, blanco, cristalino							
Brillante, blanco							
Monos blanco, opaco							
Grisáceo							
Gris oscuro							
Textura (harinosidad) externa de las tiras							
Crocante							
Moderadamente crocante							
Ligeramente crocante/blando							
Moderadamente blando							
Blando							
Textura (harinosidad) interna de las tiras							
Harinosa							
Moderadamente harinosa/blando							
Ligeramente harinoso/blando							
Blando							
Muy blando							
Totales							

HOJA DE PUNTAJE DE CALIDAD DE COCCIÓN

Número de Prueba: _____ Panelista _____ Fecha: _____

Para cada muestras y factor de calidad, indique su evaluación marcando una cruz (X) en el cuadrado adecuado (columna según el número de la muestra, fila según el valor). Evalúe primero la apariencia externa de TODAS las muestras antes de evaluar las demás características.

Características	Número de muestras						
Apariencia (del tubérculo entero)							
Excelente							
Muy bueno							
Bueno							
Regular							
Malo							
Apariencia (en muestras estrujadas)							
Excelente							
Muy bueno							
Bueno							
Regular							
Malo							
Textura							
Extremadamente Harinoso							
Muy Harinoso							
Moderadamente Harinoso							
Ligeramente Harinoso/Acuoso							
Moderadamente Acuoso							
Acuoso							
Muy Acuoso							
Sabor inadecuado (en muestra estrujada)							
Ninguno							
Ligero							
Moderado							
Mucho							
Extremo							
Que se deshace (en muestra estrujada)							
Nada							
Ligeramente							
Moderadamente							
Mucho							
Extremadamente							
Descoloración (en tubérculo íntegro)							
Ninguna							
Ligera							
Moderada							
Mucha Extrema							
Totales							

Anexo 20 FORMATO PARA LA ENTREVISTA DE EVALUACION ABSOLUTA

Nombre: _____ Ocupación: _____

Lugar de trabajo/provincia: _____ Lugar de evaluación _____

Fase de cultivo: _____ Fecha: _____

CLON/Tratamiento	PUNTAJE Y RAZONES		
	BUENO 5 J	REGULAR 3 K	MALO 1 L
	(5)	(3)	(1)
	(5)	(3)	(1)
	(5)	(3)	(1)
	(5)	(3)	(1)
	(5)	(3)	(1)
	(5)	(3)	(1)

H. MATERIAL SUPLEMENTARIO

PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE GENOTIPOS PARA RESISTENCIA AL DÉFICIT HÍDRICO

Para medir la repuesta de las plantas a deficiencia de agua se utilizarán experimentos bajo condiciones controladas y en condiciones de campo según se describen a continuación:

1. ENSAYOS EN INVERNADERO

Preparación del sustrato

Se realizará una mezcla homogéneamente de 80% de suelo esterilizado, con 20% de sustrato inerte (pomina). El sustrato se secará al ambiente previo llenado de macetas.

Llenado de macetas

Se llenarán las macetas con 2.7 kg de sustrato dejando por lo menos 3 cm libres del borde y se trasplantará un tubérculo de cada genotipo por maceta.

Fertilización

Se enviará una muestra del sustrato para realizar el análisis físico-químico del sustrato para efectuar la fertilización.

Plagas y enfermedades

El control de plagas y enfermedades se realizará de manera preventiva o curativa, de acuerdo a la presencia e incidencia de los agentes causales.

Riego

Se colocará en todas las macetas a Capacidad de Campo (CC) saturando con 800 ml de agua y se dejará reposar por 72 horas previa a la plantación de los tubérculos.

Se tomará el peso de la maceta a CC, esto servirá como base para iniciar los riegos. Este se lo realizará de acuerdo a la evapotranspiración que se presenta en el invernadero, es decir la maceta servirá como un lisímetro, los riegos se efectuarán dos a tres veces por semana, recuperando el agua perdida por evapotranspiración.

Estrés hídrico

Cuando los genotipos empiecen a tuberizar, se detendrá el riego a los tratamientos con estrés hídrico, el déficit de agua se reducirá paulatinamente en un tiempo prudencial de 20 días, es decir que el agua disponible en las maceta se dividirá

para los 20 días, logrando así que el agua se pierda gradualmente y no de golpe, esto evita que la planta sufra un “estrés” y reaccionen los mecanismos de adaptación.

Cuando las plantas de los tratamientos con estrés hídrico lleguen al día 20 de déficit hídrico se procederá a regar nuevamente alcanzando el peso a CC previo al estrés hídrico.

En los tratamientos sin estrés hídrico, se realizará el riego normal por medio del peso de cada maceta.

Cosecha

La cosecha se realizará cuando las plantas alcancen 50% de senescencia (planta completamente amarilla por efecto de la madurez).

Variables en estudio:

Potencial de Recuperación

Después de que los tratamientos con estrés hídrico alcancen los 20 días de déficit hídrico, se evaluará la marchitez de la planta usando la escala de Beekma and Bouma (1986), después de ésta fecha se vuelve a regar registrando a las 24 horas un nuevo valor de marchitez (Cuadro 5).

Cuadro 5. Escala para registrar plantas con síntomas de marchitez y el potencial de recuperación después de un severo estrés hídrico bajo condiciones de invernadero.

Registro de marchitamiento y recuperación	Porcentaje estimado de área foliar turgente	Descripción de los síntomas
9	> 95	Todas las hojas
8	80	turgentes
7	70	Hojas inferiores
6	60	marchitas
5	50	Medio inferior de la
4	40	planta marchita
3	30	Hojas altas todavía
2	20	turgentes
1	5	Planta completamente
0	0	marchita, hojas con necrosis

Contenido Relativo de Agua

Se tomará un foliolo del tercio superior de la planta y luego se pesa la muestra en fresco, después se hidrata el foliolo en una bandeja con agua destilada durante 12 horas en la oscuridad y posteriormente se pesa (peso turgente), luego la muestra se colocará en una estufa por 48 horas a 65 °C o hasta que llegue a un peso constante y se obtendrá el peso seco según Ekanayake (1993).

Esta variable se evaluará a los 13 días y a los 20 días del estrés hídrico y se calculará usando la siguiente fórmula: $CRA (\%) = (PF-PS) / (PT-PS)$. Dónde:

PF = Peso Fresco

PS = Peso Seco

PT = Peso Turgente

Número de tubérculos por planta

Se contabilizará el número de tubérculos por planta de cada maceta.

Rendimiento por planta

Se pesará la cantidad de tubérculos producidos por cada planta.

Materia seca del tubérculo

Se pesará el total de tubérculos por cada planta previamente secados en una estufa a 80oC durante 72 horas o hasta que la muestra llegue a un peso constante.

Materia seca

Se extraerá la planta completa por tratamiento para registrar el peso seco de cada órgano, hojas, tallos, tubérculos y raíz.

El proceso de preparación para el pesado en fresco se realizará de forma rápida y bajo sombra para evitar la pérdida de peso del material vegetal (Peso fresco), luego se separará por hojas, tallos, tubérculos y raíz, registrando su peso fresco total (PFT) de hoja, tallo y tubérculo, por separado. A continuación se colocará en bolsas de papel, se etiquetará y se las ubicará en una estufa a 80 oC durante 72 horas o hasta obtener peso constante.

Para estimar el peso seco total de cada órgano (PST), se usará la fórmula de Bonierbale *et al.* (2007):

$$PST = \frac{(PFT * PSM)}{PFM}$$

Dónde:

$$PST = \text{Peso seco total}$$

$PFT = \text{Peso fresco total}$
 $PSM = \text{Peso seco de la muestra}$
 $PFM = \text{Peso fresco de la muestra}$

Finalmente para conocer el porcentaje de materia seca, se aplicará la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Materia Seca} = \frac{(\text{Peso materia seca})}{(\text{Peso materia húmeda})} \times 100$$

Promedio geométrico del rendimiento

Se expresará a dimensionalmente. Se calculará con la siguiente fórmula reportada por Falconí (2005):

$$PG = (Y_p \times Y_s)^{1/2}$$

Dónde:

PG = Promedio geométrico

Y_p = Rendimiento potencial

Y_s = Rendimiento bajo estrés

Rendimiento relativo de la biomasa

Se expresará en porcentaje. Se utilizará la siguiente fórmula (Rossouw and Waghmarae, 1995):

$$RRB = \frac{\text{Peso seco de la planta con estrés}}{\text{Peso seco de la planta sin estrés}} \times 100$$

En donde:

RRB = Rendimiento relativo de la biomasa

Peso seco de la Planta = Materia seca del follaje + Materia seca de las raíces y estolones + Materia seca del tubérculo.

Rendimiento relativo del tubérculo (RRT)

Se expresará en porcentaje. Se utilizará la siguiente fórmula según Rossouw and Waghmarae (1995):

$$RRT = \frac{\text{Peso seco del tubérculo de la planta con estrés}}{\text{Peso seco del tubérculo de la planta sin estrés}} \times 100$$

Eficiencia del uso del agua (EUA)

Se expresará adimensional. Se utilizará la fórmula de Rossouw and Waghmarae (1995).

$$EUA = \frac{\text{Peso total de la planta seca (g)}}{\text{Suma total del agua usada (g)}} \times 100$$

2. ENSAYOS EN CAMPO

Para evaluar la resistencia de los genotipos de papa al estrés causado por sequía se realizará un ensayo que comprende el estudio de dos factores: 1) Con condiciones favorables para el desarrollo de cultivo “Con Riego” y 2) Con un aporte hídrico reducido en el estado fenológico de floración “Sin Riego”; se instalará un sistema de riego por goteo para evaluar la capacidad de recuperación de las plantas después del déficit hídrico.

Factores en estudio:

a) Riego: CR: Con Riego, SR: Sin Riego; b) Genotipos

Variables en estudio:

1) Potencial de recuperación

Cuando los genotipos inician el período de floración se evaluará el potencial de recuperación (**Cuadro 6**) es decir en “condiciones normales”, luego se cortará el suministro de agua y se evaluará la marchitez de la planta a partir del día 20 de déficit hídrico, inmediatamente se procederá a la restitución de agua a los genotipos y se evaluará su recuperación 24 horas después del riego.

Cuadro 6. Escala para registrar plantas con síntomas de marchitez y el potencial de recuperación después del estrés hídrico.

Registro de marchitamiento y recuperación	Porcentaje estimado de área foliar turgente	Descripción de los síntomas
9	> 95	Todas las hojas turgentes
8	80	
7	70	Hojas inferiores marchitas
6	60	
5	50	Medio inferior de la planta marchita
4	40	
3	30	Hojas altas todavía turgentes
2	20	
1	5	Planta completamente marchita
0	0	Hojas con necrosis

Fuente: Beekma and Bouma,(1986).

2) Contenido de clorofila.

Se medirá el contenido de clorofila de las hojas con la ayuda de un medidor MINOLTA SPAD-502, cuando empiece la floración en condiciones normales, luego en condiciones de déficit hídrico y posterior al riego para determinar la recuperación de los genotipos y la cantidad de clorofila de cada genotipo.

3) Contenido relativo de agua (WRC).

El contenido relativo de agua (WRC) se determinará cuando empiece la floración en condiciones normales, luego en condiciones de déficit hídrico y posterior al riego. Para su evaluación se tomará una muestra (hoja) al azar de cada planta y se determinará el peso fresco, luego se someterá a una inmersión prolongada (aproximadamente de 12 horas) en agua destilada y se obtendrá el peso turgente. Se colocará la muestra al horno por 48 horas a 65°C hasta alcanzar un peso constante y se determinará el peso seco, finalmente se aplica la fórmula señalada a continuación (Smart and Bingham, 1974):

$$WRC(\%) = \frac{(Pf - Ps)}{(PT - Ps)} * 100$$

Dónde:

Pf=Peso fresco de la muestra de hojas.

PT=peso turgente de la muestra de la hoja.

PS=Peso seco de la muestra de hojas.

4) Materia seca

Se extraerá una planta completa representativa por tratamiento para registrar el peso seco de cada órgano, hojas, tallos, tubérculos y raíz.

El proceso de preparación para el pesado en fresco se debe realizar de forma rápida y bajo la sombra para evitar la pérdida de peso del material vegetal (Peso fresco), luego se separarán por hojas, tallos, tubérculos y raíz. Se registrará el peso fresco total (PFT) de hoja, tallo y tubérculo, por separado.

Posteriormente se colocará en bolsas de papel y se identificará, colocándolas en la estufa a 80 °C durante 72 horas o hasta obtener peso constante, este será el peso seco de la muestra (PSM).

Para estimar el peso seco total de cada órgano (PST), se utilizará la fórmula descrita por Bonierbale et al., (2007):

$$PST = \frac{(PFT * PSM)}{PFM}$$

Dónde:

PST = Peso seco total

PFT = Peso fresco total

PSM = Peso seco de la muestra

PFM = Peso fresco de la muestra

Finalmente para conocer el porcentaje de materia seca se aplicará la siguiente fórmula:

5) Rendimiento y sus componentes

Plantas cosechadas

Se contabilizará el número de plantas cosechadas dentro de la parcela neta.

Número de tubérculos por planta.

Se tomarán al azar 6 plantas de la parcela neta, de las cuales se contabilizará el número de tubérculos por planta y se reportará el promedio.

Rendimiento por planta

El rendimiento se calculará en base al peso total de los tubérculos a la cosecha de la parcela neta, se dividirá para el número de plantas cosechadas, el promedio se expresará en kg/planta.

Rendimiento por tamaño del tubérculo

Para determinar el rendimiento por tamaño del tubérculo se clasificarán los tubérculos cosechados de la parcela total en tres categorías: papa comercial de primera (peso mayor a 60 g), comercial de segunda (peso entre 30 a 60 g) y papa de desecho (peso menor a 30 g). Los resultados se expresarán en kg/categoría.

Rendimiento total

Se expresará en kg/parcela.

Porcentaje de materia seca del tubérculo.

Se realizará con la metodología propuesta por Bonierbale *et. al.*, (2007).

Selección de genotipos con resistencia a la sequía

La selección de genotipos se la realizará por medio del análisis de las variables evaluadas, teniendo en consideración la capacidad de recuperación de los genotipos luego de someterlos a estrés hídrico, el contenido de clorofila, contenido relativo de agua, materia seca y rendimiento.

Índice de susceptibilidad a la sequía (DSI):

Este índice caracteriza la estabilidad del rendimiento entre dos ambientes, los valores tienen un rango desde relativamente resistente a la sequía (DSI negativo), hasta relativamente susceptible a la sequía (DSI positivo) (Fischer and Maurer, 1978). Se calculará utilizando la siguiente fórmula:

$$DSI = (1 - Y_s / Y_c) / (1 - M_s / M_c)$$

Y_s = rendimiento bajo condiciones de estrés

Y_c = rendimiento control (con riego)

M_s = rendimiento promedio de todos los genotipos bajo estrés

M_c = rendimiento promedio de todos los genotipos del control (con riego)

Índice de tolerancia a la sequía (DTI):

Este índice representa la habilidad de la planta para sobrevivir bajo condiciones de estrés por falta de agua (Fischer and Maurer, 1978). Se calculará mediante la siguiente fórmula:

$$DTI = (Y_s \times Y_c) / (M_c)^2$$

Y_s = rendimiento bajo condiciones de estrés

Y_c = rendimiento control (con riego)

M_s = rendimiento promedio de todos los genotipos bajo estrés

M_c = rendimiento promedio de todos los genotipos del control (con riego)



GOBIERNO NACIONAL DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

**Econ. Rafael Correa Delgado
PRESIDENTE CONSTITUCIONAL**

**Lcdo. Javier Ponce Cevallos
MINISTRO DE AGRICULTURA, GANADERÍA
ACUACULTURA Y PESCA**

**Dr. Juan Manuel Domínguez Andrade, Ph.D.
DIRECTOR GENERAL DEL INIAP**

ISBN 978-9942-07-882-7



9 789942 078827