

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Evaluación del Daño por Frío en Veintiún Genotipos de Papa (*Solanum tuberosum*) mediante las Metodologías de Nivel de Daño por Escala Visual y Fuga de Electrolitos

Proyecto de Investigación

Esteban Espinosa Córdova

Ingeniería en Agroempresa

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero en Agroempresas

Quito, 18 de Julio del 2017

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS E INGENIERÍAS

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Evaluación del Daño por Frío en Veintiún Genotipos de Papa (*Solanum tuberosum*) mediante las Metodologías de Nivel de Daño por Escala Visual y Fuga de Electrolitos

Esteban Espinosa Córdova

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Antonio León, Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 18 de Julio del 2017

© Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombre: Esteban Espinosa Cordova

Código de estudiante: 00105256

C. I.: 1716638497

Lugar, Fecha Quito, 18 de Julio del 2017

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que en el transcurso de este proyecto aportaron con recursos, conocimientos, dedicación y motivación para desarrollar una investigación de calidad. De esta manera un agradecimiento especial a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) en el proyecto “Marker-assisted selection for potato germoplasm adapted to biotic and abiotic stresses caused by global climate change” y a la Universidad San Francisco de Quito. Por aportar con los recursos económicos necesarios para llevar a cabo la experimentación y permitírnos pertenecer al proyecto de investigación científica más importante en cuanto a la adaptabilidad del cultivo de papa al cambio climático. De igual manera quiero agradecer a Antonio León quien ha sido un gran maestro a lo largo de la carrera y apoyó en el desarrollo del proyecto con su conocimiento. A los profesores de la universidad que a lo largo de mi carrera han aportado con formación profesional incluyendo a Mario Caviedes, Carlos Rúaless y Diego Gangotena. Al equipo del laboratorio de Biotecnología Agrícola y de Alimentos por el apoyo durante el proyecto incluyendo a Fernando Herrera y Darío Ramírez.

A mi madre quien ha sido una guía emocional y un pilar fundamental en el desarrollo de mi carrera.

RESUMEN

Las temperaturas bajas o heladas son uno de los factores abióticos que más daños causan en la producción de papa a nivel mundial, por lo que muchos esfuerzos se han realizado para evitar el daño provocado por el frío. Entre las soluciones más viables es el desarrollo de genotipos que sean más tolerantes a los cambios ambientales y la baja de temperatura. Esta investigación evalúa el daño por frío en veintiún genotipos mediante la utilización de las metodologías de nivel de daño con la utilización de una escala visual e índice de daño por fuga de electrolitos. Utilizando un diseño experimental en bloques completamente al azar con tres repeticiones se evalúan las metodologías utilizadas mediante una comparación de los niveles de tolerancia de seis genotipos con los resultados obtenidos en las dos metodologías y con los resultados anteriormente obtenidos por Amagua (2013). Los resultados obtenidos indican que el genotipo más tolerante a la baja de temperaturas fue Superchola, seguido por Puca, mientras que el genotipo más susceptible fue Estela.

Palabras clave: Heladas, Electrolitos, Escala Visual, Tolerancia.

ABSTRACT

Frost or low temperatures are one of the abiotic factors that cause more damage in potato production worldwide, so many efforts have been made to avoid the damage caused by the cold. Among the most viable solutions is the development of genotypes that are more tolerant to environmental changes and lower temperatures. This research evaluates the damage by cold in twenty-one genotypes through the use of methodologies of level of damage with the use of a visual scale and index of damage by electrolyte leakage. Using a completely random experimental block design with three repetitions, the methodologies used are evaluated by comparing the tolerance levels of six genotypes with the results obtained in the two methodologies and with the results previously obtained by Amagua (2013). The results obtained indicate that the genotype most tolerant to low temperatures was Superchola, followed by Puca, while the most susceptible genotype was Estela.

Key words: Frosts, Electrolyte, Visual Scale, Tolerance.

TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción.....	11
A. Descripción.....	11
B. Importancia Económica a Nivel Mundial.....	12
C. Importancia de la papa en el Ecuador.....	13
D. Diversidad Genética	14
E. Factores Bióticos	14
F. Factores Abióticos.....	15
1. Sequías.....	15
2. Fotoperíodo.....	16
3. Temperatura.....	17
G. Heladas	18
1. Definición	18
2. Daño Causado por las Heladas en Papa.....	19
3. Métodos para Cuantificar el Daño Producido por las Heladas.....	21
4. Métodos preventivos para reducir el impacto de las heladas	22
H. El Cambio Climático en la Producción de Papa.....	22
II. Justificación	23
III. Objetivo general:.....	26
IV. Objetivos específicos:.....	26
V. Hipótesis:.....	26
VI. Metodología:.....	27
A. Material Vegetal	27
B. Localización del ensayo.....	27
C. Sustrato para las Macetas y Siembra	27
D. Condiciones de cultivo (Riego y Nutrición).....	28
E. Condiciones del Ensayo	28
1. Etapa Fenológica	28
2. Exposición al frío.....	28
VII. Metodología de Evaluación	30
A. Daño Foliar mediante Escala de Visual.....	30
B. Índice de Daño por Exposición al Frío.....	30

1.	Obtención de Discos	30
2.	Cálculo de Índice de Daño por Exposición al Frío.....	31
C.	Diseño experimental	32
1.	Unidad experimental.....	33
2.	Aleatorización.....	33
3.	Esquema del análisis estadístico.....	34
VIII.	Resultados.....	34
A.	Dos Situaciones de Baja en la Temperatura	34
B.	Validación de las Metodologías Utilizadas Evaluando la Tolerancia de Seis Genotipos de Papa	35
1.	Nivel de Daño Foliar Usando la Metodología de Escala Visual	35
2.	Índice de Daño por Fuga de Electrolitos	38
3.	Comparación de la tolerancia a la baja de temperaturas según las metodologías utilizadas	40
C.	Evaluación del Daño por Bajas Temperaturas en Veintiún Genotipos de Papa.....	41
1.	Nivel de Daño por Frío Mediante Escala Visual.....	41
2.	Índice de Daño por Fuga de Electrolitos	42
IX.	Discusión	45
A.	Nivel de Daño mediante Escala Visual	46
B.	Índice de Daño por Fuga de Electrolitos	48
C.	Comparación de la Clasificación de Tolerancia	50
X.	Conclusiones.....	53
XI.	Recomendaciones.....	54
XII.	Bibliografía	55
XIII.	Anexos	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Aleatorización de las unidades experimentales según las condiciones a exposición..	34
Tabla 2 Comparación de la Clasificación de Tolerancia a la baja de Temperaturas obtenida a partir de las Metodologías de Nivel de Daño por Escala Visual y índice de Daño por Fuga de Electrolitos. La escala de daño visual* son los resultados obtenidos por Amagua (2013).....	41
Tabla 3 Nivel de daño obtenido por la metodología de escala visual de Vega y Bamberg (1995). Se indica el nivel de daño para el control sometido durante 12 horas 15°C, los tratamientos a 4°C durante 6 horas y a -18°C durante 2.5, 5 y 12.5 minutos.	42
Tabla 4 Daño por fuga de electrolitos medido a los 2.5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C.....	64
Tabla 5 ANOVA de Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 2.5 minutos.....	65
Tabla 6 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 2.5 minutos	65
Tabla 7 Daño por fuga de electrolitos medido a los 5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C.....	66
Tabla 8 Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 5 minutos	67
Tabla 9 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 5 minutos	67
Tabla 10 Daño por fuga de electrolitos medido a los 12.5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C.....	68
Tabla 11 Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 12.5 minutos	69
Tabla 12 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 12.5 minutos	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Monitoreo de la Temperaturas para dos situaciones de helada obtenidas por la estación meteorológica ubicada en El Boliche, Latacunga-Ecuador. La línea roja que cruza el eje horizontalmente indica la temperatura (2°C) que comienza el estrés por frío en (<i>Solanum tuberosum</i>) según Mora y Delgado (2006).	35
Figura 2 Nivel de daño mediante escala visual obtenida de (Vega & Bamberg, 1995). Se agregan imágenes que corresponden al nivel de daño propuesto por Vega y Bamberg (1995).	36
Figura 3 Nivel de Daño Foliar a -18°C por 2.5 Minutos Usando la Metodología de Escala Visual.	37
Figura 4 Tiempo vs Índice de Daño por Exposición al frío. Datos evaluados a los 2.5 minutos de exposición a condiciones extremas de temperatura a -18°C.....	38
Figura 5 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Seis Variedades de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos.	39
Figura 6 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintiún Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos.	43
Figura 7 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintiún Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 12.5 minutos.	44
Figura 8 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos: (99 071 17), (97 25 3), (39 90 62 15), (12 4 175), (07 32 15) y (07 46 8).....	59
Figura 9 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos: (98 38 12), (39 002 52), (98 2 8), (Natividad), (Superchola) y (39 90 90 15).....	60
Figura 10 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos:(12 4 45), (39 90 71 17), (39 90 97 27), (Josefina), (Puca) y (Victoria).	61
Figura 11 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos:(Estela), (Yana) y (39 90 75 26).....	62
Figura 12 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintiún Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 5 minutos.	63

I. Introducción

A. Descripción

Solanum tuberosum es una planta herbácea, perenne, caducifolia y tuberosa, con tallos semi-erectos que pueden llegar a un metro de altura (Andrade y Sherwood, 2002). Tiene hojas compuestas con 7 a 9 folios imparipinnadas y de forma lanceolada, las cuales se dispersan de manera espiralada en los tallos y contienen tricomas en las hojas ((Devaux et al., 2010; Tapia y Fies, 2013). Los tallos aéreos se originan a partir de yemas presentes en el tubérculo que es utilizado como semilla, estos tallos son herbáceos, suculentos, erectos o decumbentes (Cuesta et al., 2002).

La papa pertenece al género *Solanum* y se caracteriza por tener tubérculos verdaderos formados al extremo del rizoma, se divide en dos subespecies: *tuberosum* y *andigena*(Rodríguez, 2009). Las diferencias morfológicas y fisiológicas entre las dos subespecies son muy pequeñas pero una de las principales diferencias fisiológicas es que *andigena* depende de un fotoperiodo corto para llevar a cabo la tuberización(Ochoa, 2001; Andrade y Sherwood, 2002).

La papa con sus parientes silvestres se distribuyen a lo largo del continente americano, desde los Estados Unidos hasta el sur de Argentina (Spooner y Hijmans, 2001). *Solanum tuberosum* es una especie originaria de la zona andina de América del Sur (Ochoa, 2001). Específicamente *andigena* es nativa de los Andes y se distribuye desde Venezuela hasta el norte de Argentina (Huamán y Spooner, 2002). Mientras que *tuberosum* es originaria las áreas adyacentes a Chile, en la actualidad son ampliamente cultivadas en todo el mundo, específicamente en Asia, América del Norte y Europa (Huamán y Spooner, 2002).

Estudios históricos presentados por Pérez (2010) mencionan a la papa como un producto base en la alimentación precolombina. La papa se ha cultivado alrededor de cuatro mil años y

conforma uno de los principales alimentos de varias culturas alrededor del mundo (Sinagap, 2017). Si consideramos que la papa está distribuida por la mayor parte del mundo, se debe considerar algunos aspectos económicos de importancia.

B. Importancia Económica a Nivel Mundial

La papa es considerada el cuarto cultivo de mayor importancia alrededor del mundo, superado únicamente por tres cereales que son el maíz, el trigo y el arroz (Magne y García, 2015). Los tubérculos se utilizan para la alimentación humana en diversos tipos de alimentos procesados como purés, cremas, sopas, croquetas, tortillas, masas, bebidas alcohólicas como el vodka y para consumo animal (Devaux et al., 2010).

Para el año 2015, la producción mundial de papa incremento en un 2.83% respecto al año 2013, determinando una tasa de crecimiento superior a la tasa de crecimiento registrada entre el periodo del 2000-2013 que fue de un 1.66% (Sinagap, 2017). La mayor producción se registra en los periodos de 2014 y 2015 con una producción total de 385 millones de toneladas de papa (Sinagap, 2017). Para el año 2015 el país que mayor producción registra es China, representando el 25% de la producción mundial con 96 millones de toneladas (Sinagap, 2017). El segundo país más representativo en cuanto a la producción es India con 12.05%, seguidos por Rusia con 8.18%, Ucrania con 6.15%, Estados Unidos con 5.21% y Alemania con el 3.01% (Sinagap, 2017).

Se observa un aumento en los niveles de rendimientos a lo largo de los últimos años, sin embargo la producción mundial no ha aumentado ya que la superficie cosechada ha disminuido pero se espera que aumente la demanda del producto en el tiempo (FAO, 2010). Representa uno de los cultivos más importantes en la agricultura, economía y seguridad alimentaria, y según estimaciones de la FAO se espera que para el año 2020 la demanda mundial duplique a la consumida en 1993 (FAO, 2010).

C. Importancia de la papa en el Ecuador

La papa constituye uno de los rubros más importantes de los sistemas productivos de la serranía ecuatoriana, de igual manera establece una fuente importante de alimentación e ingresos de las familias campesinas (Andrade y Sherwood, 2002). En Ecuador para el cultivo de papa participan mayoritariamente pequeños y medianos productores, con fincas de hasta 20 hectáreas 88% de cultivadores de papa; el 12% restante pertenece a productores con superficies mayores a 20 hectáreas, considerados como grandes productores (Devaux et al., 2010; Maldonado y Suárez, 2016)

Las principales provincias productoras de papa para el año 2015 fueron: Carchi con el 32.5% de la producción y con el rendimiento más alto a nivel nacional de 21.49 t/ha, en segundo lugar se encuentra Cotopaxi con 11.55% de la producción nacional y con un rendimiento de 9.69 t/ha, en tercer lugar se encuentra Chimborazo con el 11.09% de la producción nacional y rendimiento de 11.19 t/ha (Sinagap, 2017)

En base al boletín situacional de la papa obtenido del Sinagap (2017), la producción nacional disminuyó para el año 2015 en un 5.59% con respecto con el año 2014. Esto se atribuye a la reducción de las superficies cosechadas en un 10.55% pasando de un área cosechada para el 2014 de 33,208 ha, a 29,703 ha para el 2015 (Sinagap, 2017). El aumento en el rendimiento nacional del 11.80% no fue suficiente para aumentar la productividad pasando de 11.9 t/ha en el 2014 a 13.4 t/ha en el 2015 (Sinagap, 2017). Por otro lado, las importaciones de papa al Ecuador han aumentado en los últimos años, pasando de 4,000 toneladas en el año 2000 a 8,390 toneladas para el año 2015, con el pico máximo de importación en el año 2008 con un total de 11,421 toneladas (Sinagap, 2017) .

La papa en Ecuador tiene valor económico, cultural y social ya que la adaptación del cultivo a diversos pisos ecológicos de la región interandina ha posibilitado que un grupo muy

heterogéneo de productores produzcan en condiciones distintas (Devaux et al, 2010). La diversidad genética es causante de la mayor parte de la capacidad adaptativa del cultivo de papa a las distintas condiciones climáticas alrededor del mundo (Magne y García, 2015).

D. Diversidad Genética

La papa tiene la diversidad genética más abundante sobrecualquier otra planta cultivada(Estrada, 2000). Los recursos genéticos de las papas están compuestos por variedades silvestres, especies autóctonas, variedades locales, híbridos y plantas silvestres (Magne y García, 2009). Está compuesta aproximadamente por un 70% de especies diploides y el 30% restante está conformada principalmente por especies tetraploides, adicionalmente existe un número reducido de tríploides y pentaploides (Magne y García, 2009)

La diversidad de caracteres constituyen una herramienta clave para la incorporación de genes a otros cultivares mediante cruzamientos o manipulación genética (Estrada, 2000). De esta manera, la diversidad genética provee de recursos utilizables para: la adaptación a diversos ambientes, capacidad para tolerar extremos ambientales, crecer en suelos pobres, dar mayor productividad y capacidad de tolerancia a los factores abióticos y bióticos (Andrade y Sherwood, 2002).

E. Factores Bióticos

Existe un rango bastante amplio de factores bióticos que afectan el desarrollo del cultivo de papa, pero las enfermedades del cultivo de papa que más pérdidas causan en el rendimiento, al igual que el deterioro de la calidad del producto, son causadas por: tizón tardío (*Phytophthora infestans*) pudrición seca (*Fusarium spp*), sarna (*Streptomyces scabies*), pie negro (*Pectobacterium*), costra negra (*Rizoctonia solani*) y roña (*Spongospora subterranea*)(Andrade & Sherwood, 2002; Ochoa, 2001; Montesdeoca et al., 2013). En cuanto a las plagas que más

afectan en la productividad de cultivo se encuentran los siguientes: gusano blanco (*Premnotrypes vorax*), tres especies de polillas (*Phthorimaea operculella*, *Symmetrischema tangolias* y *Tecia solanivora*), mosca minadora (*Liriomyza spp*), pulgones (*Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae*), trips(*Frankiniella tuberosi*) y el nemátodo del quiste (*Globodera pallida*)(Montesdeoca et al., 2013).

Una planta que se ve afectada por estrés abiótico tiene como consecuencia más problemas para defenderse contra los agentes bióticos de plagas y enfermedades anteriormente mencionadas (Perez, 2010) .

F. Factores Abióticos

Las condiciones del cultivo son muy variables dependiendo de una variedad a otra, pero por lo general prefieren suelos arenosos, sueltos, con buen drenaje y ricos en humus(Daniel, 1986).Los principales factores abióticos que afectan al cultivo de papa son el fotoperiodo, las sequías y la temperatura (Perez, 2010).

1. Sequías

Muchos de los agricultores en la región andina se ven limitados en la producción de papa por la falta de sistemas de riego, por lo tanto dependen del régimen hídrico que viene acompañado con el invierno(Ekanayake, 1994). Esto da como resultado una sola siembra de papa al año para los agricultores que no tienen disponibilidad de riego en épocas secas. Según Huamán y Spooner (2002) para cada hectárea de papa durante un ciclo de producción se requieren alrededor de 400-800 mm de agua para que el tubérculo lleve a cabo un buen desarrollo. En Ecuador, como en la región andina, se ha visto un cambio significativo en los extremos ambientales siendo de mayor intensidad y durante periodos más prolongados (INAHMI , 2011).

La disponibilidad de agua en el suelo para el crecimiento de la planta depende principalmente del contenido de humedad, de las características de retención de humedad y de los regímenes hídricos. La sequía en la producción de papa se ha descrito según Ekanayake (1994) como consecuencia de: 1) la reducción del follaje productivo (escasa emergencia y expansión final); 2) reducción de la tasa de fotosíntesis por unidad de área foliar; 3) y la reducción del periodo vegetativo. En cualquier etapa de crecimiento se da una baja en la productividad cuando afecta una sequía (Magne y García, 2015). Según Ekanayake (1994) las etapas más vulnerables a la sequía son la emergencia, iniciación de brotes y el crecimiento de tubérculos.

Cuando un tubérculo se ve afectado por la sequía se da un crecimiento alternado lo que causa grietas y tubérculos deformes (Ekanayake, 1994; Mahajan y Tuteja, 2005). De esta manera la vulnerabilidad del producto comercial obliga a los agricultores a tecnificar las condiciones de riego maximizando la productividad del cultivo (Hinojosa, 2009). Se debe mencionar que a condiciones de fotoperiodo largo y con una intensidad de radiación solar elevada, se eleva los daños producidos por la sequía en el cultivo de papa (Magne y García, 2009)

2. Fotoperíodo

El fotoperíodo se refiere a la longitud del día, *Solanum tuberosum* requiere más de 14 horas de horas luz al día en la fase vegetativa y menos de 14 horas luz en la formación y producción de tubérculos (Daniel, 1986; Benavidez, 2002). Esta sub especie cuando es sembrada bajo condiciones de día corto muestra una tuberización temprana y bajo condiciones de día largo ocurre lo contrario (Perez, 2010). Por otro lado, la subespecie *andigena* muestra una tuberización adecuada bajo condiciones de día corto pero no muestra una tuberización profusa bajo condiciones de día largo (Benavidez, 2002).

En las dos subespecies, tanto en *tuberosum* como *andigena* se ha visto que el inicio del crecimiento del tubérculo está influenciado por el fotoperiodo y la intensidad de luz recibida con una correlación a un marcado crecimiento posterior del área foliar (Perez, 2010). Esto sucede ya que la intensidad lumínica es un factor importante en la síntesis de carbohidratos a través del proceso de fotosíntesis(Perez, 2010).

3. Temperatura

La temperatura es el principal factor que determina la adaptabilidad de diferentes especies en distintas locaciones, afectando actividades como: la velocidad de reacciones químicas; cambio de estructura y actividad de las macromoléculas; los cambios de estado del agua; funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática (Fernandez y Johnston, 2006; Benítez y Nilver, 2015). A medida que la temperatura disminuye en unos pocos grados, se reduce significativamente la tasa de crecimiento pero se debe mencionar que los efectos de la temperatura sobre cada uno de los procesos fisiológicos determinan el efecto total del crecimiento de la planta (Amagua, 2013).

Existen algunas etapas que requieren de bajas temperaturas para que ocurran procesos fisiológicos como la dormancia, germinación, floración y formación de tubérculos (Fernandez y Johnston, 2006). De esta manera el tubérculo en latencia comienza su emergencia desde los 5°C de forma lenta y se maximiza hasta los 16°C. La planta desarrolla su área foliar profusamente en temperaturas que varían entre 19-26° C, las temperaturas superiores a los 36°C aumentan excesivamente la respiración y afectan el proceso fotosintético (Perez, 2010). Se da una mejor tuberización con una temperatura ideal del suelo de 15-18° C (Oyrazún et al., 2002). Lo peor de los cambios en las temperaturas son las heladas, las cuales representan un 29% de las pérdidas en la cadena productiva de la papa en el Ecuador (Velasco y Flores, 2017).

G. Heladas

1. Definición

La palabra helada es ampliamente utilizada para describir el efecto meteorológico cuando los cultivos presentan daño por congelación (Benítez y Nilver, 2015). La terminología de una helada, técnicamente se refiere a la formación de cristales de hielo sobre las superficies, tanto por congelación del rocío como por el cambio de fase de vapor a agua a hielo (Barrales, 2000). Las heladas se dan cuando la temperatura del aire es inferior a los 0 ° C medida a una altura de dos metros sobre el nivel del suelo (Benítez y Nilver, 2015).

Durante la noche el enfriamiento del aire es más rápido que el enfriamiento del tejido vegetal por lo que la temperatura de los distintos órganos se encuentra unos grados superior a la temperatura ambiental. Según Martínez et al. (2007) el nivel de daño depende de la intensidad y la duración de la baja en temperaturas. Siendo así, la exposición a temperaturas bajo cero puede que no produzca daño por periodos cortos de tiempo, mientras que esa misma temperatura puede causar graves daños si se da una exposición por periodos prolongados (Benítez y Nilver, 2015).

Según Estrada (2000), los siguientes fenómenos físicos producen heladas:

- Intrusión de masas de aire con temperaturas de congelación.
- Pérdida de calor del suelo por radiación, se presenta en las horas del amanecer con cielos despejados que permiten la pérdida de calor.
- Pérdida de calor por evaporación, ocurre cuando las lluvias son seguidas de un viento constante que seca las hojas y baja la temperatura.

Las heladas de radiación se caracterizan por cielos despejados, con poco viento, inversión térmica, temperaturas en el punto de rocío (temperatura que alcanza cuando el aire se enfría hasta alcanzar una humedad relativa del 100%), temperaturas del aire que normalmente

caen por debajo de los 0°C durante la noche pero sobre los 0°C en el día (Lhomme, 2003; Benítez y Nilver, 2015). El calor del suelo se pierde hacia el aire en forma de radiación, causando la inversión térmica, lo que ocurre es que la temperatura cercana al suelo es inferior en 2 a 3°C a la registrada a 1.5 metros de altura a nivel del suelo afectando a los cultivos de menor tamaño (Martinez et al, 2007).

En las regiones andinas de América del Sur, las heladas pueden ocurrir en cualquier etapa del cultivo y según estimaciones de Pino y Chen (2016) cerca del 25% del área total sembrada con papa tiene un alto riesgo de afección por las heladas. En Ecuador las heladas se pueden presentar en cualquier mes del año, no obstante los meses de julio, agosto, septiembre, noviembre y diciembre son más frecuentes (INAHMI, 2011). De esta manera el cultivo de papa en la cordillera andina tiene un gran riesgo de exposición a una helada durante todo el año, con bajas en las temperaturas que fluctúa entre -1 a -2.2°C. (Amagua, 2013). Estas temperaturas causan graves daños en la producción de papa en especial si duran por periodos prolongados (INAHMI, 2011).

2. Daño Causado por las Heladas en Papa

Las temperaturas de los órganos de una planta como las hojas, flores, frutos y tallos tienden a igualarse con el aire que les rodea (FAO, 2010). Por otro lado la temperatura de las raíces, tubérculos y otros órganos subterráneos se mantiene muy similar a las del suelo, (Pino y Chen, 2016). Los órganos gruesos que contienen bastante agua tienen una mayor pasividad térmica debido al alto calor específico del agua, mientras que los tejidos delgados como hojas finas, flores y yemas presentan una variación más rápida de su temperatura (Martinez et al., 2007). De esta manera la temperatura de los órganos aéreos se ve determinada por el calentamiento ocasionado por la radiación solar y atmosférica, y por el enfriamiento causado

por la radiación, transpiración y respiración celular que disipan parte importante de energía (Barrales, 2000).

La incidencia de las heladas tiene impactos negativos en la producción de papa tanto a nivel nacional como a nivel mundial, causando pérdidas en los rendimientos y limitación en la distribución geográfica del cultivo. Un reporte presentado por FAO (2010) agrupa de la siguiente manera a las plantas en base a categorías de sensibilidad al daño por congelación: (1) frágiles; (2) ligeramente tolerantes; (3) moderadamente tolerantes y (4) muy tolerantes. Determinando que las frágiles son las aquellas que no han desarrollado mecanismos para evitar la congelación intracelular y ubica a *Solanum tuberosum* dentro de dicha categoría (FAO, 2010).

La planta de papa se caracteriza por su sensibilidad a heladas, produciéndose daño en el tejido foliar a temperaturas inferiores a los -3°C (Amagua, 2013). Según Mora (2006), las temperaturas próximas a los 2°C no causan la muerte de las hojas, aunque se provoca daños selectivos en las hojas jóvenes y en la zona apical del tallo. La sensibilidad de la planta a este factor reduce la producción de papa en millones de hectáreas a nivel mundial, llegando a reportar pérdidas en la producción del 30% en los Andes y en Ecuador hasta del 100% (Cuesta et al., 2002; Estrada, 2000)

Los tubérculos presentan una sintomatología de color gris oscuro bajo la cáscara y después de descongelarse se vuelven blandos (Magne & García, 2009). La sintomatología en el follaje después de la baja en la temperatura presenta marchitez de las hojas y toman rápidamente un color oscuro lo que permite clasificar el daño producido según algunas metodologías (Choque et al., 2007).

3. Métodos para Cuantificar el Daño Producido por las Heladas

Con el fin de cuantificar el daño provocado por las heladas se han realizado algunas metodologías que determinan la tolerancia o susceptibilidad de los cultivos de papa. Según Pino y Chen (2016) en campo abierto comúnmente se evalúa el daño producido mediante metodologías que clasifican el porcentaje de plantas muertas, porcentaje de plantas recuperadas post-helada y el rendimiento por planta. Otra metodología utilizada para evaluar el efecto de las heladas es mediante escala visual, que permiten determinar un nivel de daño mediante observación y cuantificación del efecto producido (Vega y Bamberg, 1995). Entre los métodos más utilizados se encuentra la estabilidad de la membrana que se cuantifica mediante la fuga de electrolitos (Flint, 1966; Sukumaran, 1971; Lyons, 1973; Chen y Burke, 1977; Mahajan y Tuteja, 2005; Pino y Chen, 2016).

a) Escala visual

La importancia de la escala visual radica en la capacidad de determinar el nivel de daño producido a determinada planta mediante un parámetro de clasificación (Vega y Bamberg, 1995). Es una metodología muy utilizada por varios autores los cuales han obtenido resultados exitosos en estudios de evaluación de la tolerancia a bajas temperaturas (Molina, 2011; Amagua, 2013; Benítez y Nilver, 2015)

b) Daño por Fuga de Electrolitos

El daño celular causado por la helada ocurre cuando se forman cristales de hielo dentro del protoplasma de las células y estas son afectadas por la formación de hielo que causa una ruptura mecánica de las estructuras protoplasmáticas (Levitt, 1980; Demidchik y Straltsova, 2014). Por otra parte la conductividad eléctrica es medida mediante un conductímetro que mide la rapidez con la que se transporta impulsos eléctricos de un polo a otro (Flint, 1966). A mayor daño celular existe mayor fuga electrolítica o conductividad eléctrica por lo que se transporta

con mayor rapidez el impulso eléctrico en un medio únicamente con agua destilada y el tejido a evaluar (Demidchik y Straltsova, 2014).

4. Métodos preventivos para reducir el impacto de las heladas

Según Amagua (2013), entre los métodos preventivos más utilizados para reducir el efecto producido por la baja en las temperaturas se incluyen controles pasivos y controles activos. Por un lado los controles pasivos más utilizados son los siguientes: sembrar en suelos con pendientes; evitar el laboreo excesivo del suelo; mantener los cultivos con buena fertilización. Por otro lado, los controles activos más utilizados son: la utilización de cultivos protegidos (invernaderos, cubiertas, túneles); calentamiento del aire; aumento de la humedad del suelo; y aspersión de agua.

Los métodos preventivos para reducir el impacto de la baja de temperaturas en la producción de papa no son de gran eficiencia al intentar contrarrestar los extremos ambientales que aumentan en intensidad y duración causa del cambio climático (Pino y Chen, 2016).

H. El Cambio Climático en la Producción de Papa

Además de los problemas mencionados en el cultivo de papa, se debe agregar que Las Naciones Unidas presentaron en el año 2010 evidencia suficiente que comprueba que el cambio climático es una amenaza actual dado a que se está experimentando los efectos en distintas partes del mundo mediante distintas manifestaciones (FAO, 2010). Los principales efectos del cambio climático son la intensificación y cambio en la frecuencia de extremos climáticos como son las heladas, sequías e inundaciones afectando a la agricultura y a la población más vulnerable (FAO, 2010). Efectos que continuarán y aumentarán en el tiempo si no se logra disminuir o detener por completo las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmosfera (Quiroz et al., 2016)

Los cultivos de papa se enfrentan a constantes cambios en las condiciones del clima, proyecciones futuras indican cambios importantes específicamente en cuanto a temperaturas y precipitación en ciertas regiones del mundo (Quiroz et al., 2016). Estimaciones sobre los efectos del cambio climático en la producción de papa para los próximos 50 años proyectan una disminución en el rendimiento del 18 al 32% en el caso de que las variedades no tengan una adaptación adecuada, pero con variedades adaptadas la disminución en el rendimiento pueden ser menores al 9% (Cuesta et al., 2002). La causa principal de la reducción en el rendimiento se atribuye al cambio de temperatura que según estimaciones incrementará hasta en 3,2°C en la mayoría de regiones del planeta (Scott et al., 2016). De esta manera existe la necesidad urgente para limitar las repercusiones del cambio climático ya que la adaptación del cultivo de papa dependerá de lo que hacemos hoy en día para evitar los efectos del cambio climático a futuro (Estrada, 2000).

II. Justificación

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los rubros más importantes en los sistemas productivos del callejón interandino, constituyendo una fuente importante de alimentación e ingresos de las familias campesinas, además de representar el cuarto alimento más consumido a nivel mundial (Devaux et al., 2010; Sinagap, 2017). Se cataloga a la papa como una especie no tolerante a la baja de temperatura produciendo una reducción significativa en la productividad de parcelas a través de todo el mundo (FAO, 2010). La sensibilidad de la planta de papa hacia la baja de temperaturas es uno de los factores que más reduce la capacidad productiva y las locaciones agrícolas donde se puede cultivar (Devaux et al., 2010). En Ecuador y a nivel regional existen áreas bastante extensas que tienen potencial agrícola pero presentan restricciones de temperatura que limitan la producción del cultivo (INAHMI, 2011).

A pesar que la mayor porción del cultivo de papa se encuentra localizada en los valles bajos andinos, la presión demográfica ha dado un desplazamiento del cultivo hacia los páramos provocando un deterioro ambiental, y un aumento del riesgo de heladas en la producción de papa (Andrade et al., 2002). Además las heladas se presentan con mayor intensidad en los meses de julio, agosto, septiembre, noviembre y diciembre, pero se pueden presentar en cualquier época del año (INAMHI, 2011). Según Cuesta et al. (2002), en los Andes se reportan pérdidas en la producción de papa de alrededor del 30% a causa de temperaturas entre -2 a -4° C y en el Ecuador se dan hasta el 100% de pérdidas a causa de la baja de temperatura (Estrada, 2000; Cuesta et al., 2002).

Se han aplicado muchos esfuerzos en desarrollar técnicas para reducir parcialmente el daño provocado por las heladas, pero no existen muchas soluciones exitosas para contrarrestar el efecto producido (Pumisacho & Sherwood, 2002). Entre las soluciones halladas por los agricultores se encuentran métodos prácticos pero que a su vez presentan nuevos retos, como es utilizar prácticas de siembra en pendientes pronunciadas o siembra en época de lluvia (Corpoica, 2006). Entre los resultados más exitosos que se han encontrado esta la selección de genotipos que tengan mayor tolerancia a la baja de temperatura (FAO, 2010).

De esta manera una de las opciones más viables para la adaptación del cultivo de papa a la baja en las temperaturas es encontrar los genotipos que mejor se comportan a los distintos extremos ambientales (FAO, 2010). La gran diversidad de germoplasma como su comportamiento a diferentes condiciones ambientales ha sido parcialmente explorada, con mucha información por conocer que es de vital importancia para que el proceso de mejoramiento genético pueda obtener rasgos de adaptación a las condiciones esperadas del cambio climático (Rodríguez, 2009). Existen genotipos que se adaptan de mejor manera a diferentes condiciones ambientales pero no existe un genotipo que logre la adaptación a todas

las condiciones ambientales que presentan en el callejón interandino (Ponce, 2013). Basándose en la situación actual, muchos programas de mejoramiento genético están trabajando en realizar estudios sobre la tolerancia y susceptibilidad a factores abióticos con el fin de seleccionar los genotipos que tengan mayor capacidad adaptativa al cambio climático (Quiroz et al., 2016). Con los esfuerzos realizados para seleccionar genotipos más tolerantes a los extremos ambientales, se conseguiría reducir las pérdidas de las futuras producción.

La información existente sobre la tolerancia a la baja de temperaturas en genotipos de papa no ha sido ampliamente estudiada por lo que es de vital importancia conocer el comportamiento de dichos genotipos cuando son sometidos a condiciones extremas de baja en la temperatura en condiciones controladas. En este sentido podemos comprender la importancia y la necesidad urgente de encontrar genotipos tolerantes a la baja de temperaturas. Se sabe que los distintos genotipos de papa tienen distintos niveles de tolerancia, por lo que es necesario definir los genotipos que mejor se comporten a la baja de temperaturas, los mismos que tendrían una mayor capacidad de resistir los efectos del cambio climático.

Además, se busca beneficiar a la comunidad científica aportando información valiosa sobre la tolerancia del cultivo de papas a la baja de temperaturas y a los agricultores con información sobre los genotipos que tienen una mayor capacidad para evitar las pérdidas por la baja de temperatura. Este trabajo experimental forma parte de una investigación llevada a cabo por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) en el proyecto “Marker-assisted selection for potato germoplasm adapted to biotic and abiotic stresses caused by global climate change”. Por estas razones es necesario evaluar cada genotipo a la baja de temperaturas con el objetivo de seleccionar los que mejor se comporten. La presente investigación evalúa la tolerancia a la baja de temperatura en condiciones controladas sobre veintiún genotipos de papa, analizando el daño visual foliar y el índice de daño basado en la fuga de electrolitos.

III. Objetivo general:

- Evaluar el daño por frío en veintiún genotipos de papa (*Solanum tuberosum*) mediante las metodologías de nivel de daño por escala visual y fuga de electrolitos.

IV. Objetivos específicos:

- Obtener y sembrar el material vegetal de los 21 genotipos de papa para los ensayos correspondientes a la evaluación del daño por frío.
- Evaluar y clasificar el nivel de daño resultante de la baja de temperatura mediante una escala visual.
- Determinar el daño provocado por la baja de temperatura en el tejido foliar mediante la metodología de fuga de electrolitos.
- Evaluar las metodologías utilizadas para la evaluación de tolerancia a la baja de temperaturas.
- Comparar la tolerancia de los diferentes genotipos en base de los resultados de las metodologías de evaluación usadas.

V. Hipótesis:

La baja en la temperatura bajo condiciones controladas causaría diferente nivel de daño a los veintiún genotipos de papa (*Solanum tuberosum*).

VI. Metodología:

A. Material Vegetal

Se obtuvieron ocho tubérculos para cada uno de los veintiún genotipos de papa del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Los tubérculos fueron entregados en mallas de plástico, las cuales fueron almacenadas durante diez días hasta la siembra en condiciones de obscuridad y abundante ventilación. Los tubérculos fueron utilizados como semilla para la obtención de plantas que permitan desarrollar la experimentación. Dentro de estos genotipos se incluyen: genotipos comerciales (Josefina, Superchola, Victoria, Natividad, Yana, Puca, Estela); y genotipos promisorios que están en desarrollo:(99-071-17), (98-38-12), (98-2-6), (97-25-3), (39-90-71-17), (39-90-71-27), (39-90-90-15), (39-90-75-26), (39-90-62-15), (39-002-52), (12-4-145), (12-4-45), (07-32-15) y (07-46-8).

B. Localización del ensayo

El ensayo se realizó en el invernadero dentro de las instalaciones de la Universidad San Francisco de Quito. Ubicada en la parroquia de Cumbayá, perteneciente al cantón de Quito, en la provincia de Pichincha, Ecuador. Se encuentra ubicado a 2400 msnm presentando un clima cálido, que tiene una variación de temperatura de 2-5°C con una temperatura promedio 25 °C. Las coordenadas geográficas de la provincia son: 0°20'00"S (latitud) y 20°15'00"O (longitud). La ubicación del proyecto es importante para tener la facilidad de atención inmediata a los requerimientos del experimento.

C. Sustrato para las Macetas y Siembra

Para la siembra del material vegetal se utilizó un sustrato compuesto por 3 partes de tierra negra y 1 parte de pomina. El sustrato fue previamente esterilizado en un autoclave que alcanza condiciones de 1.2 atmosferas de presión y 121°C durante treinta minutos. Se utilizaron

semillas con un peso promedio de 60 gramos, presentando un estado de brotación múltiple y el material seleccionado se encontraba libre de plagas y enfermedades, La siembra se realizó en macetas de 1 litro, a una profundidad de 5 centímetros, con un tubérculo por maceta y ubicando los brotes hacia arriba. Se sembraron ocho macetas para cada genotipo en experimentación.

D. Condiciones de cultivo (Riego y Nutrición)

El riego se realizó de una a dos veces por la semana, manteniendo la humedad a capacidad de campo y aplicando directamente al sustrato para evitar problemas fitosanitarios. El riego se suspendió dos días antes de la evaluación a la baja de temperaturas con el objetivo de evitar el congelamiento del sustrato, al igual que evitar el efecto que produce la humedad en la resistencia a las heladas.

La sustancia nutritiva Hoagland se aplicó una vez la semana desde la germinación hasta la simulación de la helada. Aplicando 10 ml de sustancia nutritiva directamente a la base del tallo de la planta un día antes de la aplicación del riego. La composición de la sustancia nutritiva es obtenida de la metodología propuesta por Hoagland y Arnon (1938).

E. Condiciones del Ensayo

1. Etapa Fenológica

Las plantas fueron sometidas a la baja de temperatura a la edad de 60 días con aproximadamente 10-15 hojas.

2. Exposición al frío

La baja de temperaturas se desarrolló en tres cámaras de frío ubicadas en la planta piloto de la carrera de alimento de la Universidad San Francisco de Quito. Las tres cámaras de frío que se utilizaron son a temperaturas de 15°C, 4°C y -18°C y la exposición al frío se llevó a cabo como se explica a continuación:

- Cinco individuos por cada genotipo de papa, fueron sometidos a una temperatura de 15°C durante 12 horas a condiciones de obscuridad, simulando la baja de la temperatura que ocurre desde las 12:30 del día hasta las 23:30. Esto ayuda a la planta a simular la baja en la temperatura y logra re-direccionar los procesos fisiológicos que determinan la supervivencia de la planta. Una de las macetas de cada genotipo es utilizado como control a 15°C para evaluar el efecto de la baja en las temperaturas.
- Una vez transcurrido el tiempo mencionado, cuatro de las cinco plantas pasan a una cámara de ambiente controlado a 4°C por un tiempo de 6 horas, simulando como bajan la temperatura desde las 23:30 hasta las 5:30. Una de las cuatro plantas se deja a 4°C para tomar muestras de evaluación de la fuga de electrolitos.
- A partir de las 5:30 am hasta las 7:30 am es cuando se da la mayor baja en las temperaturas. De esta manera las tres plantas restantes de cada genotipo fueron introducidas en una cámara de congelamiento a -18°C, donde fueron sometidas durante un tiempo de exposición de 12.5 minutos y se tomaron muestras a los 2.5, 5 y 12.5 minutos.
- Una vez concluida la exposición al frío se saca a las plantas de los ambientes controlados de 4°C y -18°C y se los ubica en la cámara de 15°C durante 24 horas hasta realizar la evaluación de daño mediante una escala visual.

Este esquema de manejo de temperaturas se utilizó inicialmente para la validación de las metodologías utilizadas mediante la evaluación de seis genotipos a la baja de temperaturas. Una vez que se determinó la validez de las metodologías, se realiza la evaluación de la baja de temperaturas en veintiún genotipos de papa.

VII. Metodología de Evaluación

A. Daño Foliar mediante Escala de Visual

Para evaluar el nivel de daño se realizan observaciones después de 24 horas que la planta fue expuesta a condiciones extremas a la baja de temperatura y se clasifica en base a la escala obtenida de Vega y Bamberg (1995). Es una escala frecuentemente utilizada la cual indica de manera general un parámetro de clasificación que permite establecer niveles de daño de las plantas afectadas (Benítez & Nilver, 2015). La escala de Vega y Bamberg (1995) describe con los niveles de clasificación como se indica a continuación: (0) Sin daños visibles; (1) Ligero bronceado en el foliolo superior; (2) Unos pocos foliolos superiores muertos; (3) Muchos foliolos superiores muertos; (4) Las hojas y peciolo superiores muertos; (5) Todas las hojas muertas; y (6) Todas las hojas y tallos muertos. A dicha escala se agregaron fotografías que representan el nivel de daño resultante por la exposición a condiciones extremas de baja de la temperatura (Figura 2). Se clasificó visualmente el daño resultante a la baja de temperaturas y posteriormente se fotografía a los genotipos fueron clasificados con el fin de tener respaldo de los niveles de daño producidos en cada genotipo evaluado.

B. Índice de Daño por Exposición al Frío

El protocolo utilizado para medir el índice de daño por fuga de electrolitos fue obtenido de Flint (1966) y también utilizada por (Sukumaran y Weiser, 1971; Palta y Li, 1980; Arvin y Donnelly, 2009; Pino & Chen, 2016).

1. Obtención de Discos

Para la obtención de discos de tejido foliar se seleccionó el tercio superior de la planta con el objetivo de estandarizar la madurez de las hojas utilizadas para la experimentación. Para cada observación del tratamiento, se obtiene un par de hojas seleccionadas del tercio superior,

realizando cinco discos que son colocados en un tubo de ensayo con 10 ml de agua destilada. Los tubos de ensayo fueron etiquetados con el tratamiento a recibir y el genotipo de la planta para evitar confusiones. Se deja reposar alrededor de una hora y se mide la conductividad eléctrica con el conductímetro JENWAY 470 de cada uno de los tubos de ensayo realizados. Se toma la conductividad eléctrica de los genotipos sometidos a las temperaturas mencionadas en la sección Exposición al Frío.

Se realizan cuatro repeticiones por cada unidad experimental. Posteriormente cada tubo de ensayo es autoclavado con los discos y se mide la conductividad eléctrica resultante con el fin de obtener total del electrolitos del tejido vegetal.

2. Cálculo de Índice de Daño por Exposición al Frío

Los discos obtenidos de plantas sin someter a la baja de temperaturas también tienen una fuga de electrolitos por lo que se requiere de una resta en los valores obtenidos de plantas similares sometidas a frío. La fórmula utilizada para el cálculo del índice de daño por fuga de electrolitos se obtuvo de Flint (1966) y se muestra a continuación:

$$I_t = 100 (R_t - R_o) / (1 - R_t); R_t = (L_t / L_k); R_o = (L_o / L_d)$$

Ecuación 1 Índice de daño obtenido de (Flint, 1966)

Donde:

I_t = Índice de daño resultante de la exposición a temperatura (t).

R_t = Liberación fraccionaria del total de electrolitos de una muestra expuesta a temperatura (t). Se toman los datos obtenidos de la fuga de electrolitos resultante a -18°C por tiempos de 2.5, 5 y 12.5 minutos.

L_t = Conductancia específica de la fuga de electrolitos de una muestra expuesta a temperatura (t).

L_k = Conductancia específica de la fuga de electrolitos de la muestra expuesta a temperatura (t) y después autoclavada.

R_o = Liberación fraccionaria de electrolitos de una muestra sin someter a temperatura. Se toma la muestra sin someter al frío de la planta sometida a 4°C.

L_o = Conductancia específica de la fuga de electrolitos de la muestra sin someter a temperatura.

L_d = Conductancia específica de la fuga de electrolitos de una muestra sin someter a temperatura, autoclavada.

C. Diseño experimental

El diseño experimental que se utiliza para el desarrollo del proyecto es Diseño en Bloques Completamente al Azar. Se utiliza este diseño experimental ya que las unidades experimentales no son homogéneas y la variación entre estas puede enmascarar el efecto verdadero de los tratamientos (Sánchez, 2014). De esta manera este método que nos permite reducir el error experimental por medio del arreglo de las unidades y de los tratamientos en el lugar experimental (Sánchez, 2014).

Se reúnen cinco de las ocho macetas sembradas con el fin de homogenizar las unidades experimentales más parecidas de cada genotipo. Se asignan a las unidades experimentales de cada genotipo un número determinado del uno al cinco para posteriormente realizar la aleatorización. De esta manera una de las unidades experimentales es tomada como control a 15°C y las tres unidades experimentales por cada genotipo sometidas a -18°C son consideradas como repeticiones del tratamiento a la baja de temperaturas.

1. Unidad experimental.

Se refiere al lugar físico donde se pondrán los tubérculos de papa, es decir en donde se pone a prueba los tratamientos para posteriormente evaluar los resultados. La unidad experimental son macetas de 1 litro de capacidad las cuales estarán ubicadas bajo un invernadero de la Universidad San Francisco de Quito. Todas las unidades experimentales son puestas una funda de plástico alrededor de la maceta con el fin de evitar contaminación de tierra u otros factores contaminantes en las cámaras de ambientes controlados.

Se siembran ocho unidades experimentales para cada genotipo de los cuales se selecciona cinco, homogenizando las plantas más parecidas entre sí, para realizar la aleatorización.

2. Aleatorización

Se ubica de manera aleatoria los tratamientos en el experimento para reducir el error experimental, para esto se utiliza una tabla aleatorizada para determinar el tratamiento a ser realizado para cada unidad experimental. Se agrupan homogéneamente las unidades experimentales en grupos de cinco para cada genotipo. Posteriormente se agrupan de tres en tres los genotipos los cuales son sometidos a condiciones extremas en la baja de temperatura, al igual la unidad experimental que recibe determinado tratamiento. La agrupación de los genotipos se lleva a cabo con el fin de formar bloques que son sometidos a la baja de temperaturas dado a que no se pueden introducir los veintiún genotipos a la vez en los cuartos de condiciones controladas. De esta manera se obtienen los siguientes tratamientos de forma aleatorizada.

Tabla 1 Aleatorización de las unidades experimentales según las condiciones a exposición.

	99 071,17	97-25-3	39-90-62-15	12-4-145	07-32-15	07-46-8	98-38-12	39-002-52	98-2-6	12-4 45	39-90-71-17	39-90-79-27	NATIVIDAD	YANA	PUCA	ESTELA	JOSEFINA	VICTORIA	SUPERCHOLA	399090,15	399075,26
2,5 min a -18°C	1	3	5	1	2	3	4	4	5	3	5	5	2	4	4	5	4	5	4	1	5
5 min a -18°C	3	5	3	5	1	4	2	2	3	3	4	1	4	5	2	2	3	1	5	2	2
12,5 min a -18°C	4	2	2	3	4	2	1	1	4	4	1	2	3	3	5	1	1	3	2	5	4
6 horas a 4°C	2	4	1	2	3	1	3	5	1	2	3	3	1	2	3	4	5	4	3	3	3
Control 15°C	5	1	4	4	5	5	5	3	2	1	2	4	5	1	1	3	2	2	1	4	1

3. Esquema del análisis estadístico

Para la variable índice de daño por fuga de electrolitos se puede realizar el esquema de análisis estadístico ANOVA, brindando la posibilidad de tener información ordenada y resumida de los tratamientos realizados. Siendo así, el análisis de la varianza utiliza la variable evaluada para poder estimar la varianza entre genotipos (Sánchez, 2014). Esta información nos sirve para realizar la prueba de significancia de Tukey con un nivel de exigencia en la prueba alfa de 5% para determinar si existe o no existe diferencia significativa entre nuestros tratamientos.

VIII. Resultados

A. Dos Situaciones de Baja en la Temperatura

La Figura 1 presenta la hora del día versus la baja en la temperatura en dos situaciones de helada monitoreadas por una estación meteorológica ubicada en el sector del Boliche, provincia de Cotopaxi, Ecuador. La primera presentada con línea azul ocurre en la fecha del 21 al 22 de marzo del 2016, mientras que la línea tomate presenta la segunda situación de helada la cual ocurre del 23 al 24 de enero del 2017. La línea roja que cruza el eje horizontalmente indica la temperatura a la cual las plantas de papa (*Solanum tuberosum*) comienzan a tener estrés por la baja de temperaturas según Mora y Delgado (2006).

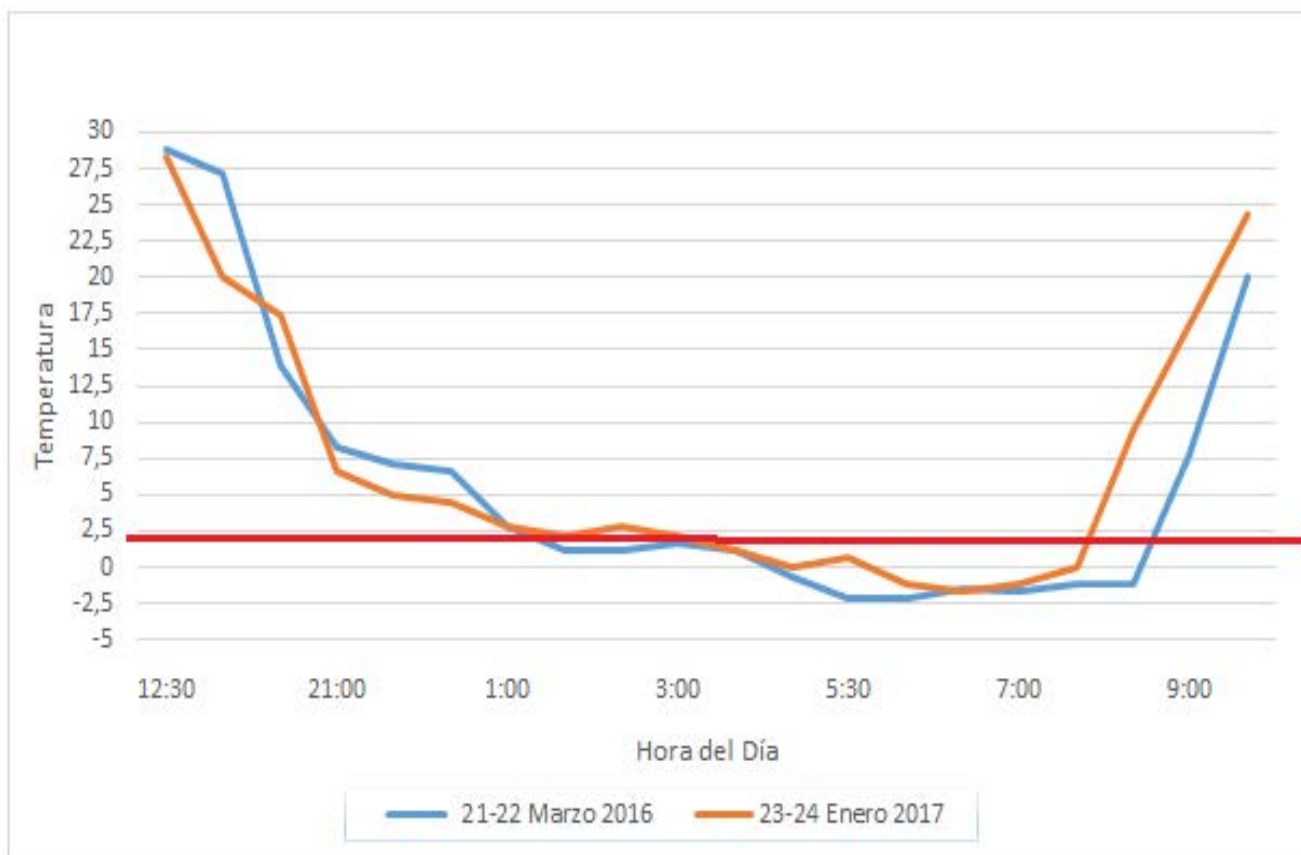


Figura 1 Monitoreo de la Temperaturas para dos situaciones de helada obtenidas por la estación meteorológica ubicada en El Boliche, Latacunga-Ecuador. La línea roja que cruza el eje horizontalmente indica la temperatura (2°C) que comienza el estrés por frío en (*Solanum tuberosum*) según Mora y Delgado (2006).

B. Validación de las Metodologías Utilizadas Evaluando la Tolerancia de Seis Genotipos de Papa

1. Nivel de Daño Foliar Usando la Metodología de Escala Visual

A la escala visual propuesta por Vega y Bamberg (1995) se agregaron imágenes de tejido foliar sometido a la baja de temperaturas que corresponden a cada nivel de daño (Figura 2). De esta manera se simplifica la clasificación del daño visual teniendo un parámetro que permite catalogar a cada unidad experimental sometido a la baja en las temperaturas. Los diferentes niveles de daño provocado en el tejido foliar de la planta se explican a continuación: (0) sin daños visibles; (1) Ligero bronceado en el foliolo superior; (2) Unos pocos folíolos superiores muertos; (3) Muchos folíolos superiores muertos; (4) Las hojas superiores y peciolo muertos; (5) Todas las hojas muertas; (6) Todas las hojas y tallos muertos.

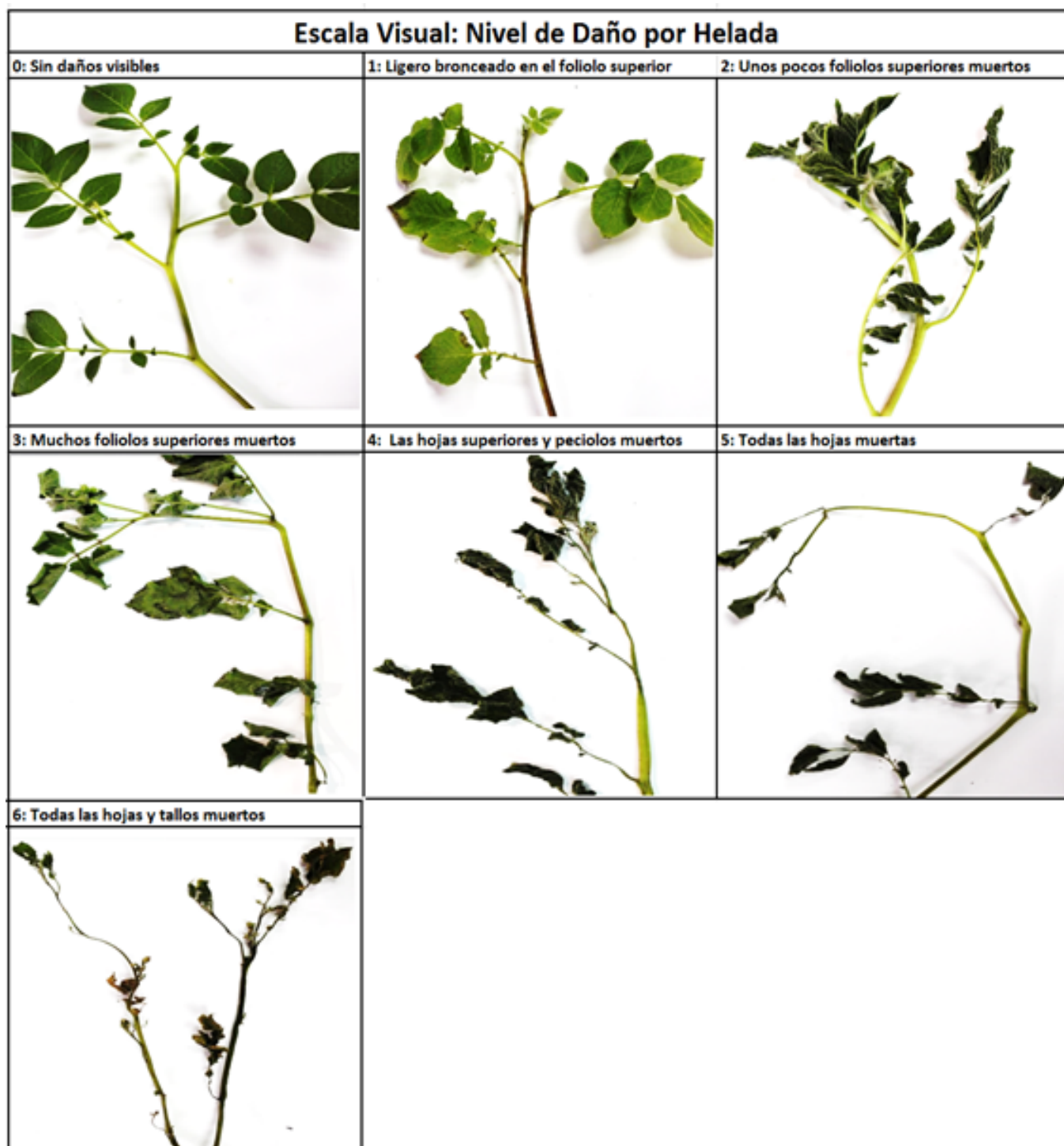


Figura 2 Nivel de daño mediante escala visual obtenida de (Vega & Bamberg, 1995). Se agregan imágenes que corresponden al nivel de daño propuesto por Vega y Bamberg (1995).

A continuación, la Figura 3 indica la clasificación del daño por frío de seis variedades de papa (*Solanum tuberosum*) evaluadas mediante la escala visual bajo condiciones controladas a -18°C durante 2.5 minutos. Junto al nombre de cada variedad se indica la imagen visual del

daño resultante a 15° C durante 12 horas, a 4°C durante 6 horas y a -18°C a 2.5 minutos. Se ordenan los resultados de más tolerante a más susceptible. Aquí se encontró que el genotipo más tolerante fue Supercholaun nivel de daño (2) representando unos pocos foliolos superiores muertos. Por otro lado Puca y Natividad tienen un nivel de daño (3) interpretado como muchos foliolos superiores muertos. Como genotipos más susceptibles a la baja de temperatura se cataloga a Yana, Victoria y Estela las cuales obtuvieron un nivel de daño de (4) representando la muerte de las hojas y peciolo superiores.






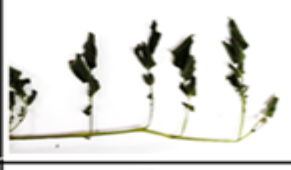












Genotipo	12 horas 15° C	6 horas a 4° C	2,5 min a -18°C	Nivel de daño mediante escala visual a -18°C por 2,5 min
Superchola				2
Puca				3
Natividad				3
Victoria				4
Yana				4
Estela				4

Figura 3 Nivel de Daño Foliar a -18°C por 2.5 Minutos Usando la Metodología de Escala Visual.

2. Índice de Daño por Fuga de Electrolitos

Se determinó la curva de congelamiento de seis genotipos de papa, tomando muestras del tejido foliar sometido a una temperatura de -18°C cada 2.5 minutos hasta los 12.5 minutos. La Figura 4 mostrada a continuación indica el tiempo en minutos vs el índice de daño por exposición al frío, determinando la curva de congelación del tejido vegetal de los seis genotipos evaluados. Se realiza una línea vertical de color rojo en la Figura 4 a los 2.5 minutos para determinar los niveles de tolerancia o susceptibilidad de los distintos genotipos. A menor índice de daño por exposición al frío se considera como mayor tolerancia del material vegetal a la baja de temperaturas. Con los resultados obtenidos se determina que Superchola es el genotipo más tolerante con el menor índice de fuga de electrolitos, se considera también a Puca como tolerante, mientras que a Yana, Victoria y Natividad son consideradas como medianamente tolerantes. Por otro lado el único genotipo que es clasificado como susceptible es Estela.

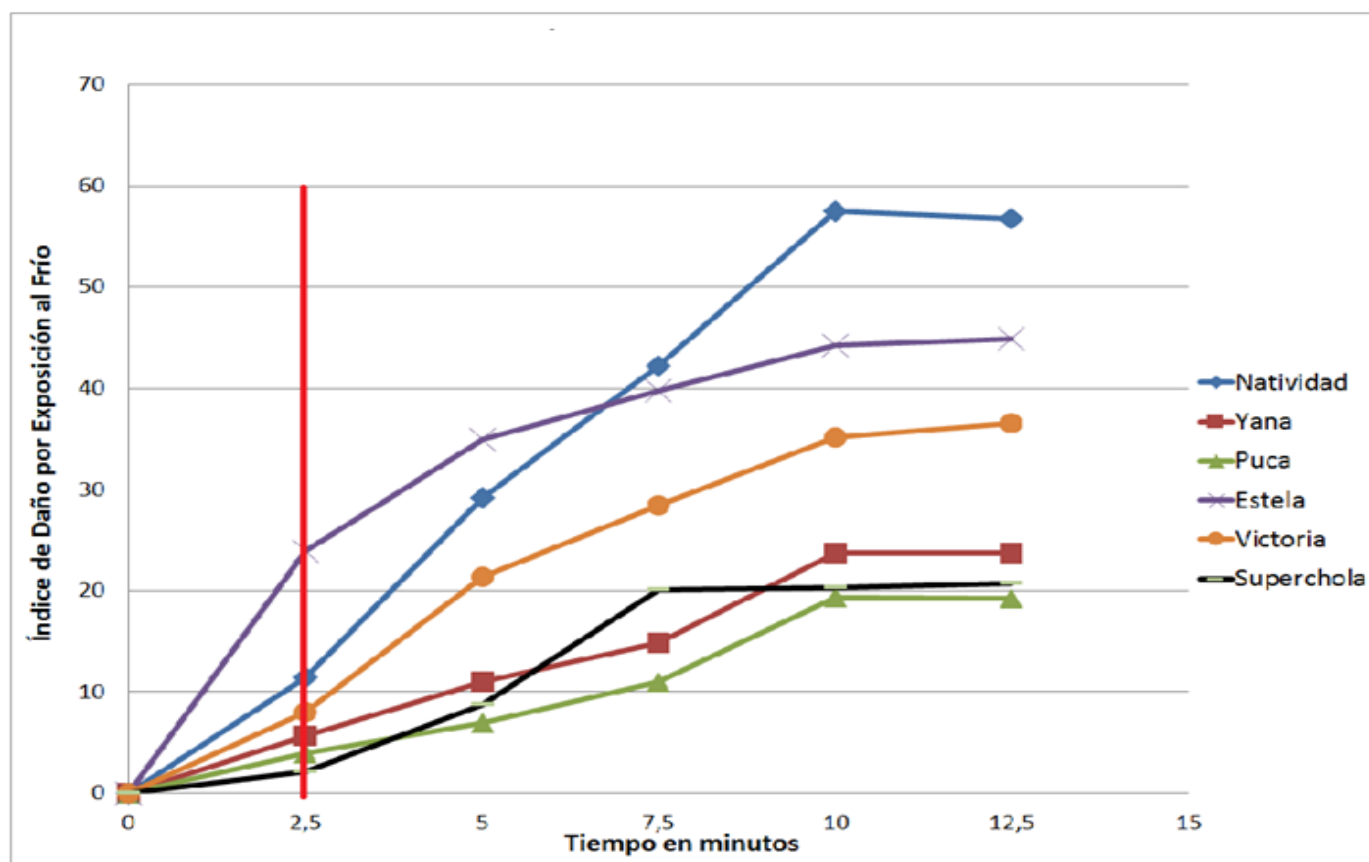


Figura 4 Tiempo vs Índice de Daño por Exposición al frío. Datos evaluados a los 2.5 minutos de exposición a condiciones extremas de temperatura a -18°C

Se muestra en la (Figura 5) las seis genotipos de papa evaluadas a condiciones controladas de -18°C durante 2.5 minutos, estas son catalogadas en rangos estadísticos mediante una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%. Las variedades más tolerantes a son Superchola y Puca, catalogadas como (a) en un rango estadístico de la prueba de Tukey. Seguidas por Yana y Victoria que se encuentran en un nivel medio de tolerancia, con una catalogación del rango estadístico de (ab). Natividad se encuentra en un rango compartido de (bc). Mientras que el genotipo más susceptible en base a la metodología de fuga de electrolitos es Estela con un rango estadístico en la prueba de Tukey de (c). Aunque existe diferencia numérica entre Superchola y Puca, no existe diferencia significativa entre ellas, lo mismo sucede con Yana y Victoria.

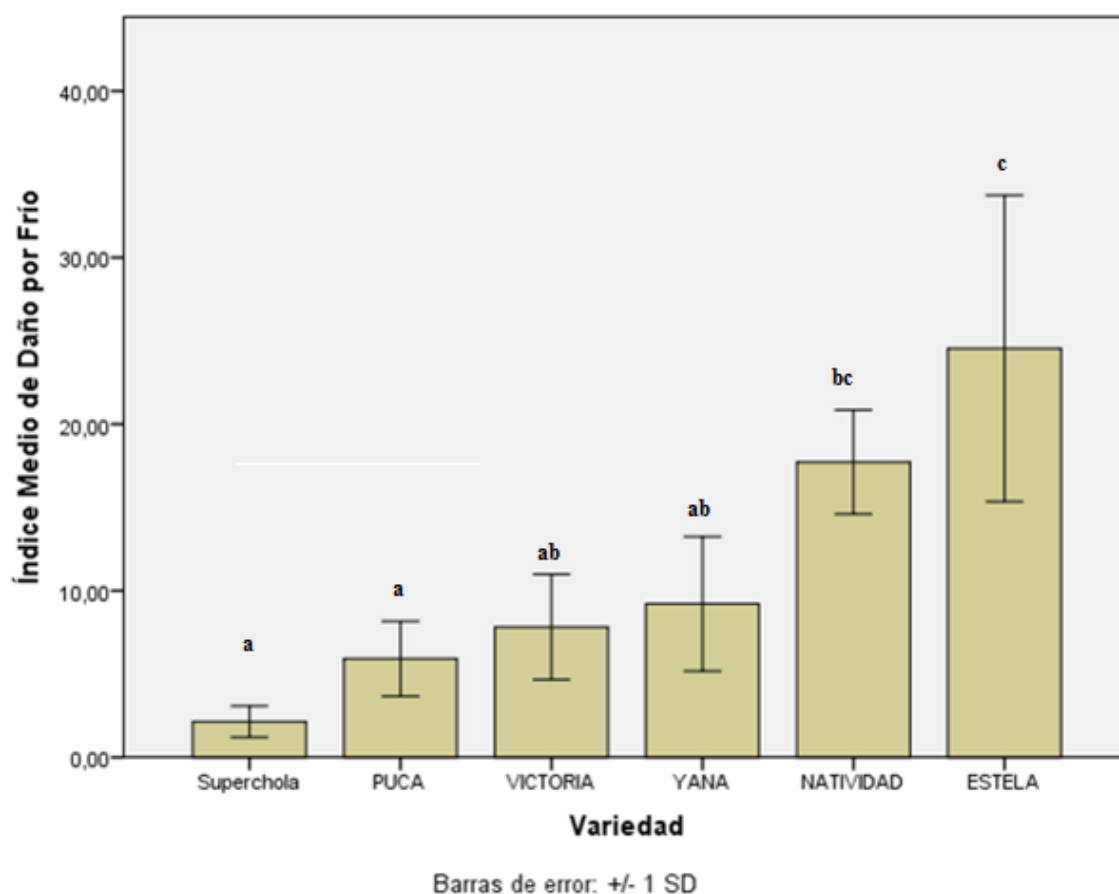


Figura 5 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Seis Variedades de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos.

3. Comparación de la tolerancia a la baja de temperaturas según las metodologías utilizadas

Se contrasta la tolerancia de seis genotipos de papa a la baja de temperaturas evaluada por medio del índice de daño por la fuga de electrolitos y el nivel de daño foliar mediante una escala visual. Los seis genotipos de papa son Superchola, Puca, Natividad, Yana, Victoria y Estela. La comparación de la tolerancia se muestra en la tabla a continuación, a la cual se ha agregado la clasificación propuesta anteriormente por Amagua (2013) quien clasifica con la misma metodología de nivel de daño foliar utilizando la escala visual a los mismos seis genotipos anteriormente mencionados. De esta manera cada metodología clasifica como (1) a la más tolerante y (6) a la más susceptible. La escala de daño visual* representa los resultados obtenidos por Amagua (2013).

Superchola es clasificada como el genotipo más tolerante en las dos metodologías realizadas en esta investigación, mientras que Amagua (2013) clasifica como la segunda más tolerante. Puca es clasificada como la segunda más tolerante en las dos metodologías de esta investigación, mientras que Amagua (2013) clasifica como la tercera más tolerante. Por otro lado, Victoria es clasificada como la tercera más tolerante mediante la metodología de fuga de electrolitos, pero la clasificación de las dos metodologías de daño visual determina como la cuarta más tolerante. Natividad es clasificada en el quinto nivel de tolerancia mediante la metodología de fuga de electrolitos y en base a los resultados presentados por Amagua (2013). Por último, Estela es clasificada como la más susceptible en las tres comparaciones realizadas.

Tabla 2 Comparación de la Clasificación de Tolerancia a la baja de Temperaturas obtenida a partir de las Metodologías de Nivel de Daño por Escala Visual y índice de Daño por Fuga de Electrolitos. La escala de daño visual* son los resultados obtenidos por Amagua (2013).

Clasificación de Tolerancia	Escala de Daño Visual **Espinoso (2017)	Escala de Daño Visual *Amagua (2013)	Método de Fuga de Eletrólitos **Espinoso (2017)
1	Superchola	Yana	Superchola
2	Puca	Superchola	Puca
3	Natividad	Puca	Victoria
4	Victoria	Victoria	Yana
5	Yana	Natividad	Natividad
6	Estela	Estela	Estela

C. Evaluación del Daño por Bajas Temperaturas en Veintiún Genotipos de Papa.

1. Nivel de Daño por Frío Mediante Escala Visual

Utilizando la escala visual propuesta por Vega y Bamberg (1995) se puede clasificar el nivel de daño obtenido por la baja en la temperatura. De esta manera los resultados presentados en la tabla a continuación indican el nivel de daño producido por la baja en la temperatura en las siguientes condiciones controladas: 15°C durante 12 horas, 4°C durante 6 horas, -18°C para 2.5, 5 y 12.5 minutos. Se ordenan de mayor a menor nivel de tolerancia en base los resultados obtenidos a condiciones de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos. Se determina que el genotipo más tolerante según es (97-25-3), seguido por Superchola y (39-90-75-26) los cuales tienen un nivel de daño de (2) a condiciones de -18°C por un tiempo de exposición de 2.5 minutos. Se puede observar que bajo todos los tiempos de exposición a -18°C el único genotipo que obtuvo un nivel de daño (6) es Estela, lo que determina que es el genotipo más susceptible al estrés por frío.

Tabla 3 Nivel de daño obtenido por la metodología de escala visual de Vega y Bamberg (1995). Se indica el nivel de daño para el control sometido durante 12 horas a 15°C, los tratamientos a 4°C durante 6 horas y a -18°C durante 2.5, 5 y 12.5 minutos.

Genotipo	12 horas a 15 °C	6 horas a 4 °C	2.5 min a -18 °C	5 min a -18 °C	12,5 min a -18 °C
97-25-3	0	0	2	3	3
Superchola	0	0	2	3	4
39 90 75,26	0	0	2	3	4
99 071,17	0	1	3	4	4
12-4-145	0	1	3	4	5
07-32-15	0	1	3	4	4
98-38-12	0	1	3	4	5
98-2-6	0	2	3	4	5
Natividad	0	1	3	4	4
39-90-90-15	0	0	3	3	4
39-90-71-17	0	0	3	4	4
Josefina	0	0	3	4	4
Puca	0	1	3	4	4
Yana	0	1	3	4	4
39-90-62-15	0	0	4	4	5
07-46-8	0	1	4	5	5
39-002-52	0	1	4	5	5
12-4-45	0	2	4	4	5
39-90-79-27	0	1	4	5	5
Victoria	0	0	4	4	4
Estela	0	1	4	4	6

2. Índice de Daño por Fuga de Electrolitos

La Figura 6 mostrada a continuación indica los veintiún genotipos de papa versus el índice de daño provocado por condiciones extremas de temperatura de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos. Se incluyen los rangos estadísticos de separación de medias obtenidos a partir de las pruebas Tukey con una significancia estadística del 95%. Se obtiene que bajo estas condiciones, el único genotipo que tiene un rango estadístico de (a) es

Superchola, seguido por Puca, (39-90-75-26) y (39-90-90-15) las cuales tienen un rango estadístico de (ab). Victoria y Yana se encuentran en un rango estadístico (abc), todos los genotipos mencionados anteriormente son considerados como tolerantes al estrés por frío. Estela es clasificada como la más susceptible de los genotipos comerciales, en un rango estadístico de (abcde). Por otro lado el genotipo más susceptible bajo las condiciones evaluadas es (98-38-12) con un rango estadístico de (f).

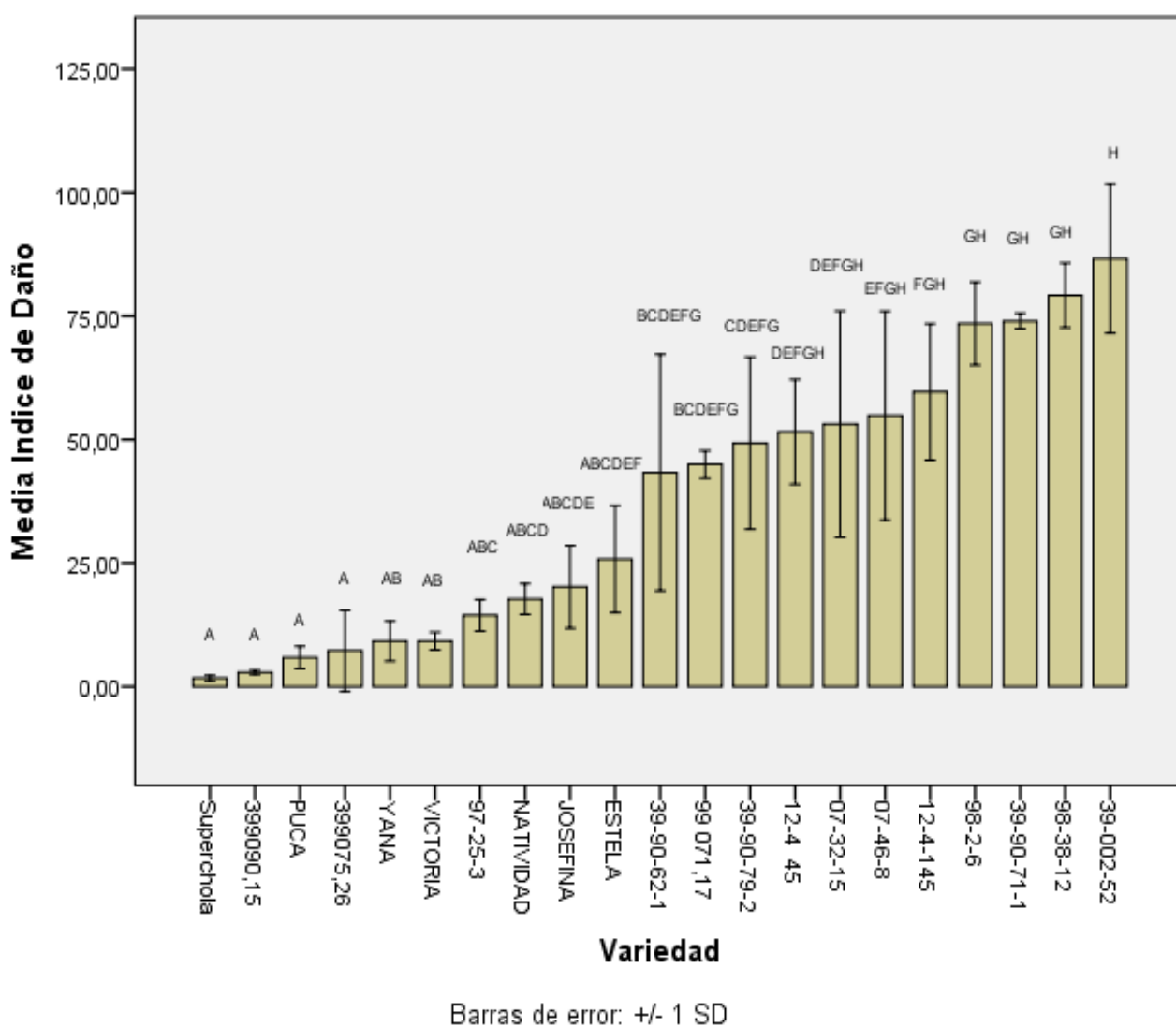


Figura 6 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintiún Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 2.5 minutos.

Por último se presentan los datos obtenidos de los veintidós genotipos de papa versus el índice de daño a condiciones extremas de temperatura de -18°C durante un tiempo de exposición de 12.5 minutos en la Figura 8. Se indican los rangos estadísticos obtenidos para los veintidós genotipos de papa evaluados. Se comprueba que Superchola se mantiene en un rango estadístico (a). Seguido por (39-90-75-26) en un rango (ab), mientras que Puca, (39-90-90-15), Josefina y Victoria se catalogan en un rango (abc). Como los genotipos más susceptibles se encuentran (39-90-62-1), (39-90-71-27), (07-46-8) y (12-4-145) clasificadas en un rango estadístico de (f)

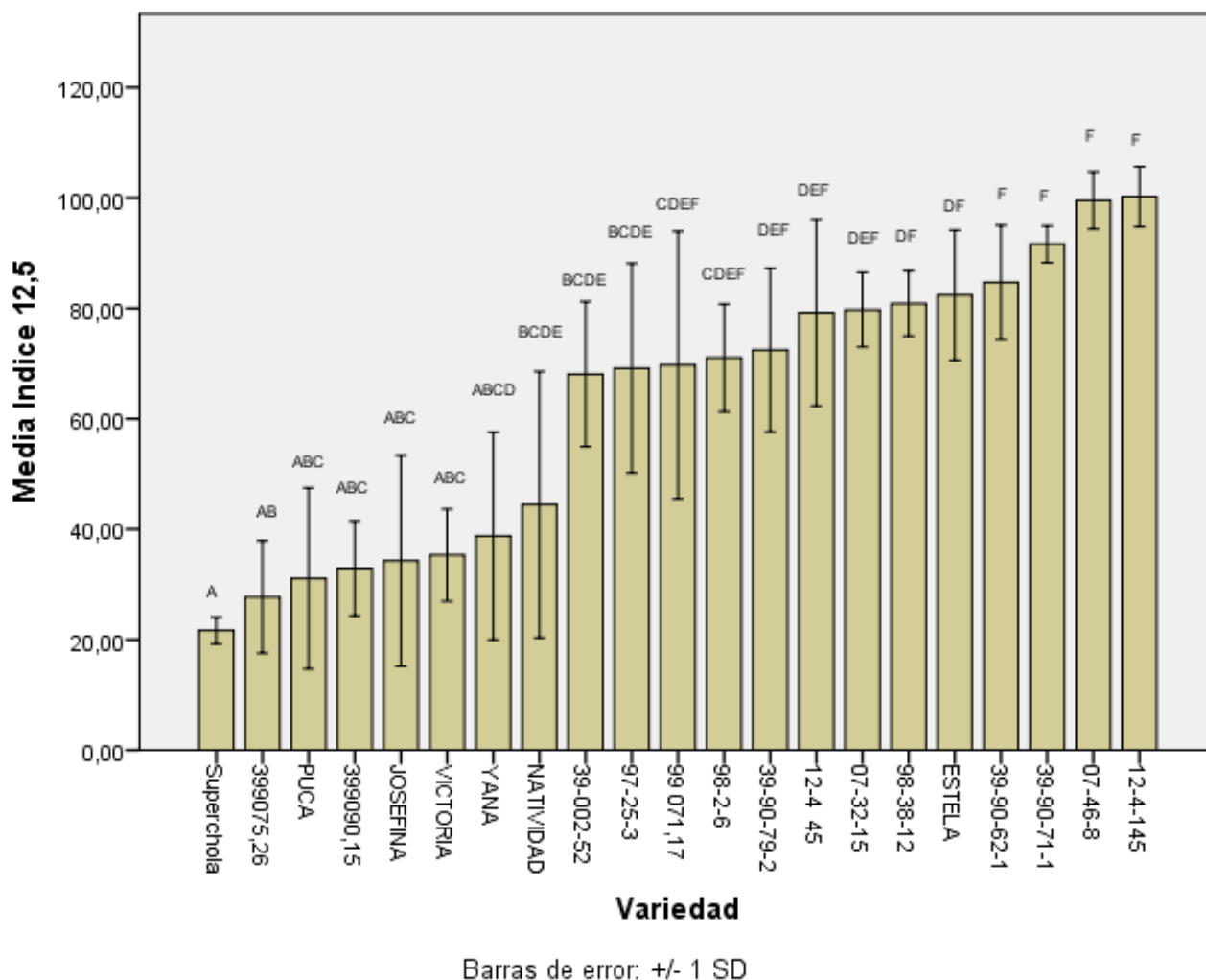


Figura 7 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintidós Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 12.5 minutos.

IX. Discusión

Las bajas temperaturas son un tipo de estrés abiótico en las plantas que como se mencionó anteriormente limita el crecimiento, la productividad y la distribución geográfica de las cultivos, además que puede llegar a ocasionar considerables pérdidas económicas (Liu, 2013). Durante este estudio se sometió a 21 variedades de *S. tuberosum* a temperaturas bajas con el objetivo de determinar su tolerancia y/o susceptibilidad hacia este estrés.

En la (Figura 1) se pueden observar dos eventos de bajas de temperaturas en la localidad de Boliche, en la provincia de Cotopaxi, Ecuador. Mediante esta figura se logró obtener el tiempo medio en que las plantas en campo soportan condiciones de helada. Esta evaluación es importante dado a que permite determinar el comportamiento de la planta a antes de que se produzca el evento de helada la cual es evaluada bajo condiciones de 15°C y 4°C con el fin de determinar como la baja de temperaturas afectan bajo diferentes condiciones. Se sometió a todos los genotipos a condiciones controladas de temperatura a -18°C por tiempos de 2.5, 5 y 12.5 minutos por la necesidad de identificar los genotipos más tolerantes a condiciones extremas de baja en la temperatura. No se intenta simular las temperaturas de una helada sino llevar a los genotipos evaluados a condiciones extremas de baja en la temperatura. Si a condiciones extremas de -18°C los genotipos muestran diferentes niveles de tolerancia, estos niveles pueden ser identificados como valores de referencia para la selección de genotipos más tolerantes a condiciones de helada. También se llevaron a cabo los ensayos bajo condiciones controladas dado a que permite homogenizar la baja de temperaturas en los tratamientos y además permite obtener una validación de las metodologías en un período de tiempo más corto.

Se utilizaron dos metodologías para el desarrollo este proyecto: el índice de daño por fuga de electrolitos y nivel daño mediante escala visual son utilizadas para determinar la

tolerancia a condiciones extremas de baja en la temperatura para cada genotipo. Se validan las metodologías utilizadas por medio de una comparación de la clasificación de tolerancia a la baja de temperaturas en seis genotipos de papa obtenidos en esta investigación y con los resultados obtenidos por Amagua (2013).

A. Nivel de Daño mediante Escala Visual

Se puede observar en la (Tabla. 3) que los diferentes genotipos se comportan de manera distinta bajo condiciones extremas de temperatura a -18°C . La sensibilidad a la congelación indica de manera general la temperatura que un órgano vegetal puede aguantar antes de que se provoque un daño visible por heladas (Mange y Garcia, 2015).

Se puede observar que los controles sometidos a temperaturas de 15°C no presentan daño evaluado mediante la escala de daño visual, esto nos indica que el daño producido esta directamente asociado a la baja de temperaturas. En base a los resultados obtenidos a -18°C durante 2.5 y 5 minutos, los genotipos (97-25-3), Superchola y (39-90-75-26) se clasifican como los más tolerantes, pasando de un nivel de daño (2) a los 2.5 minutos, a un nivel de daño (3) a los 5 minutos. Para los 12.5 minutos bajo la misma temperatura el único genotipo que mantiene nivel de daño (3) es (97-25-3). Amagua (2013) también clasifica a Superchola como una de las variedades más tolerante a las condiciones extremas de baja en la temperatura.

Clasificadas con un nivel de daño (3), es decir con tolerancia media a la baja de temperaturas bajo condiciones de -18°C durante 2.5 minutos de exposición, se encuentran los siguientes genotipos: (99-071-17), (12-4-145), (07-32-15), (98-38-12), (98-2-6), Natividad, (39-90-90-15), (39-90-71-17), Josefina, Puca y Yana. Con excepción del genotipo (39-90-90-15), todos los genotipos mantienen el nivel de tolerancia medio a condiciones de temperatura de -18°C durante 5 minutos de exposición, clasificadas con un nivel de daño (4). Bajo las mismas condiciones de temperatura, pero a un tiempo de exposición de 12.5 minutos

encontramos que los genotipos que mantuvieron el nivel de daño (4) son: (99-071-17), (07-32-15), Natividad, (39-90-90-15), (39-90-71-17), Josefina, Puca, y Yana. Por otro lado, los genotipos (39-90-75-26), Superchola y Victoria se unieron a la clasificación del nivel de daño (4) a los 12.5 minutos de exposición.

Hay dos genotipos que se repiten como las más afectadas por condiciones extremas de baja en la temperatura a -18°C durante los tres tiempos de exposición que son 2.5, 5 y 12.5 minutos, estos genotipos son (07-46-8) y (39-9079-27). Se debe mencionar que el único genotipo que alcanzó un nivel de daño (6) bajo condiciones controladas de temperatura de -18°C durante 12.5 minutos de exposición fue Estela, este nivel de daño indica la muerte de todas las hojas y tallos de la planta. Amagua (2013) también clasifica a Estela como el genotipo más susceptible a la baja de temperaturas. Estudios recientes indican que las diferencias entre una planta de papa susceptible y una tolerante es de 3° a 4°C , además que la temperatura mínima a la cual sobreviven es de -2°C por 2-3 horas, mientras que las papas silvestres toleran temperaturas de -5° a -8°C por 2 horas (Estrada, 2000; Benítez y Nilver, 2015).

En base a los resultados presentados por Benítez y Nilver (2015), las plantas tolerantes a temperaturas bajas tienen un aumento de la permeabilidad de la membrana para evitar el congelamiento intracelular, además de presentar una tolerancia a la congelación extracelular reduciendo la cantidad de hielo formado debido a un incremento de la conducción de solutos en el protoplasma (FAO, 2010; Benítez y Nilver, 2015). Además, con el objetivo de evitar el daño por condiciones extremas de frío, las plantas producen una serie de proteínas llamadas AFPS (del inglés *Antifreeze proteins*) (Griffith, 2004). Las AFPs se unen irreversiblemente a los cristales de hielo que se forman dentro de las células al momento de condiciones de frío impidiendo que se dichos cristales sigan creciendo y rompan las paredes celulares (Griffith, 2004). Diversos estudios sugieren que la adición de genes capaces de conferir a las plantas la capacidad de producir AFPs sería una herramienta contra el daño por heladas. En el estudio

realizado por Wallis, y Wang(1997) la adición de un gen sintético para la producción de AFPs en *S.tuberosum* le confirió resistencia bajo heladas, lo cual fue comprobado mediante la técnica de fuga de electrolitos (Wallis & Wang, 1997). Las variedades que presentan una mayor tolerancia a condiciones de frío probablemente son capaces de producir una mayor cantidad de AFPs, lo cual impide que se produzca la muerte celular.

B. Índice de Daño por Fuga de Electrolitos

Se puede observar que los genotipos más tolerantes a condiciones de -18°C durante 2.5 minutos de exposición son: Superchola, (39-90-90-15), Puca y (39-90-75-26). Estos cuatro genotipos están clasificados en un rango estadístico de (a) en la prueba de Tukey. En la Figura 6 se indica que los cuatro genotipos mencionados tienen un índice de daño menor al 10% de la fuga de electrolitos totales del tejido foliar. Estos resultados tienen concordancia con un estudio presentado por Wallis y Wang (1997) quien demuestra mediante la metodología de fuga de electrolitos que los genotipos susceptibles sometidos durante una hora a temperaturas de -2.5°C , liberan más del 50% de electrolitos totales del tejido vegetal. Las variedades tolerantes tienen una liberación del 25% del total de electrolitos bajo las mismas condiciones (Wallis & Wang, 1997). En este sentido clasifica a los seis genotipos mencionados anteriormente como tolerantes ya que presentan un índice de daño similar al que menciona Wallis y Wang (1997) para variedades tolerantes. De esta manera los genotipos que presenten un índice de daño mayor al 30% son considerados como susceptibles a la baja de temperaturas.

Se puede observar en las (Figuras 6, 7 y 12) a condiciones de -18°C para los tres tiempos de exposición, Superchola mantiene el rango estadístico (a) de la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 95%. Por otro lado los genotipos Puca, (39-90-75-26) y (39-90-90-15) a los 2.5 minutos de exposición a -18°C se clasifican en el rango estadístico de (a) y durante los tres tiempos de exposición condiciones de -18°C se mantienen entre los cuatro genotipos más

tolerantes al estrés por frío. Por otro lado, Victoria y Yana son clasificadas con un rango compartido de (ab) para los tres tiempos de exposición a la baja extrema de temperaturas bajo condiciones controladas. En cuanto al genotipo más susceptible para condiciones de -18°C durante 5 minutos de exposición se encuentra el genotipo (98-38-12) con un rango estadístico de (d), mientras que el mismo genotipo a condiciones de -18°C durante 2.5 minutos de exposición es clasificado como el segundo genotipo más susceptible y tiene un rango estadístico de (gh). A tiempos de exposición de 5 y 12.5 minutos a condiciones de -18°C el genotipo más susceptible es (12-4-145). Se puede observar en las (Figuras 6, 7 y 12) que Estela es clasificada como el genotipo más susceptible a la baja de temperaturas a condiciones de -18°C para los tres tiempos de exposición, comparada entre los siete genotipos comerciales.

Los resultados en esta investigación también demuestran que el tiempo a la exposición de la baja en las temperaturas aumenta el índice de daño por fuga de electrolitos. Además los diferentes genotipos de papa presentan índices de daño distinto la una de la otra, lo que representa diferentes niveles de tolerancia a la baja en la temperatura. Comparando las tres ilustraciones de índice de daño por fuga de electrolitos, se puede observar como los genotipos aumentan el índice de daño a medida que aumenta el tiempo de exposición al frío. Esto brinda confiabilidad en los resultados ya que se obtienen datos consistentes del índice de daño por fuga de electrolitos, a mayor tiempo de exposición, mayor es el daño producido.

La fuga de electrolitos puede ser detectada casi instantáneamente después de aplicado el estrés a la planta, y puede llegar a durar unos minutos como varias horas. La fuga se compone principalmente por la liberación de iones de potasio hacia el espacio extracelular, además de sus contra-iones cloro, fosfato, nitrato, citrato y malato (Demidchik y Straltsova, 2014). Al momento de la ruptura de las membranas celulares, la muerte celular también se asocia a la liberación de especies reactivas del oxígeno presentes en ciertos organelos (Demidchik y

Straltsova, 2014). Sin embargo, y pesar que se he demostrado una correlación directa entre la fuga de electrolitos y la respuesta a estrés por parte de las plantas, los mecanismos fisiológicos que la regulan están aún muy lejos de ser entendidos (Demidchik y Straltsova, 2014).

Según estudios obtenidos por Carter y Lyndstrom (1985) se demuestra que el tejido foliar del genotipo de papa Alaska Frostless tiene la capacidad de tolerar la exposición a temperaturas bajo los 0°C hasta los -12°C en ausencia de congelación del tejido por al menos 12 horas, sin inducción a la muerte celular (Carter & Lyndstrom, 1985). Determinando que los tejidos foliares de la planta de papa soportan las temperaturas bajo cero grados centígrados en ausencia de congelacion del tejido foliar. De esta manera que lesiona al tejido vegetal es la formación de cristales de hielo que causan una ruptura mecánica de la estructura protoplasmática dando la liberación de electrolitos por la destrucción de los tejidos celulares de la planta (Levitt, 1980; Arvin & Donnelly, 2009; FAO, 2010; Pino y Chen, 2016). Los diferentes niveles de tolerancia de las plantas sometidas a temperaturas bajo 0°C están determinados principalmente por la capacidad para evitar la formación de hielo intracelular (Sukumaran & Weiser, 1971).

Siendo así, la capacidad para evitar la formación de hielo en espacio intracelular determina la tolerancia de los distintos genotipos evaluados, catalogando a Superchola y Puca como los genotipos más tolerantes, mientras que el más susceptible es Estela.

C. Comparación de la Clasificación de Tolerancia

La comparación de la tolerancia a la baja de temperaturas de los genotipos evaluados mediante las dos metodologías utilizadas son comparan con los resultados obtenidos por Amagua (2013) quien utiliza la misma metodología de nivel de daño por escala visual. Es importante mencionar que el nivel de daño obtenido por Amagua (2013) fue realizado a condiciones de temperatura de -3°C, y estos concuerdan con los resultados obtenidos en esta

experimentación a condiciones de -18°C . Al mantener consistencia del nivel de daño bajo condiciones extremas de -3°C y -18°C , se logra determinar que la metodología realizada puede ser duplicada a diferentes temperaturas bajo 0°C . Las metodologías utilizadas son válidas para la evaluación de la tolerancia a la baja de temperaturas ya que se tienen similares resultados a los obtenidos a condiciones de temperatura diferente.

La comparación demuestra la similitud en los resultados obtenidos. De esta manera, Superchola es clasificada como el genotipo más tolerante en las dos metodologías realizadas en esta investigación, mientras que Amagua (2013) clasifica como la segunda más tolerante. Puca es clasificada como la segunda más tolerante en las dos metodologías de esta investigación, mientras que Amagua (2013) clasifica como la tercera más tolerante. Por otro lado, Victoria es clasificada como la tercera más tolerante mediante la metodología de fuga de electrolitos, pero la clasificación de las dos metodologías de daño visual determina como la cuarta más tolerante. Natividad es clasificada en el quinto nivel de tolerancia mediante la metodología de fuga de electrolitos y en base a los resultados presentados por Amagua (2013). Por último, Estela es clasificada como la más susceptible en las tres comparaciones realizadas.

Según Estrada (2000) y Choque et al., (2007) los principales factores morfológicos asociados a la susceptibilidad de la planta de papa a la baja en las temperaturas se encuentra los siguientes: una sola capa del tejido empalizado, las especies tolerantes presentan dos o más capas; índice estomático reducido, en las especies tolerantes se encuentra 2-3 veces más estomas que en las susceptibles; la pigmentación del tallo y el hábito de crecimiento de la planta.

Además de los problemas actuales, se debe considerar que los efectos del cambio climático aumentaran los extremos ambientales, presentando mayor intensidad en los fenómenos de inundaciones, sequías y variación en la temperatura. Según Staubli et al., (2008) se presentan tres escenarios en el cultivo de papa ante las condiciones del cambio climático,

estas son el abandono del cultivo, la expansión del cultivo a zonas nuevas o la adaptación del cultivo. Se considera que la solución más atractiva es el desarrollo de metodologías que permitan la selección de genotipos con mayor capacidad de adaptarse a un ambiente cambiante. Algunos organismos internacionales como el CIP e instituciones gubernamentales como el INIAP están desarrollando mecanismos de adaptación del cultivo de papa al cambio climático. El presente estudio forma parte de una investigación llevada a cabo por la FAO en el proyecto “Marker-assisted selection for potato germoplasm adapted to biotic and abiotic stresses caused by global climate change”. Este proyecto busca desarrollar metodologías que permitan seleccionar los genotipos de papa que mejor se adapten a las condiciones del cambio climático.

X. Conclusiones

- Las temperaturas bajo 0°C causan daño por congelación del tejido vegetal, afectando de diferente manera a los genotipos observados.
- El daño producido en el tejido vegetal es proporcional al tiempo de exposición a la baja en la temperatura.
- Los resultados de índice de daño por medio de la metodología de fuga de electrolitos es validada dado a que tiene concordancia con resultados obtenidos por otros autores y con los resultados de daño por escala visual en esta investigación.
- Este estudio refuerza trabajos anteriores que determinan que los diferentes genotipos tienen capacidad distinta para tolerar la baja en las temperaturas, dando la posibilidad de seleccionar genotipos que mejor se comporten a condiciones extremas de temperatura.
- Bajo la metodología de nivel de daño por fuga de electrolitos, los genotipos comerciales que mejor se comportan al estrés por frío fueron Superchola y Puca y los genotipos promisorios que mejor se comportan fueron (97-25-3), (39-90-90-15) y (39-90-75-26). La misma metodología determina que el genotipo más susceptible es (98-39-12)
- La metodología de nivel de daño mediante una escala visual indica que el genotipo más tolerante fue (97-25-3), seguido por Superchola y (39-90-75-26). Mientras que la misma metodología clasifica a Estela como el genotipo más susceptible al estrés por frío.

XI. Recomendaciones

- Utilizar un fertilizante completo al sustrato base al momento de la siembra para aumentar la disponibilidad de nutrientes para la planta.
- Realizar la experimentación en macetas más grandes para que la planta tenga la capacidad de aumentar el área radicular y de esta forma aumentar la capacidad productiva de tubérculos.
- Trabajar con más número de repeticiones para reducir el coeficiente de variación por los altos índices de variabilidad en los datos de índice de daño por fuga de electrolitos.
- Evaluar la tolerancia a la baja de temperaturas con metodologías que determinan porcentaje de pérdidas, daño al tubérculo, número y peso de tubérculos producidos por plantas afectadas a la baja de temperatura y la capacidad de recuperación basadas la regeneración del tejido foliar.
- Evaluar componentes asociados a la tolerancia a la baja de temperaturas como son el número de estomas, pigmentación del tallo, hábito de crecimiento y el número de capas del tejido empalizado.

XII. Bibliografía

- Amagua, J. (2013). *Respuesta a bajas temperaturas en treinta genotipos de papa (Solanum tuberosum) bajo condiciones controladas*. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas.
- Andrade, M., & Sherwood, S. (2002). *La Papa en el Ecuador*. Quito: INIAP.
- Arvin, M., & Donnelly, D. (2009). *Screening Potato Cultivars and Wild Species to Abiotic*. Kermán: Journal of Agriculture Science and Technology .
- Barrales, D. (2000). *Relaciones térmicas en el sistema suelo-planta-atmósfera durante la incidencia de una helada*. Montesillo, Mexico: Tesis de Doctorado en Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados.
- Benavidez, A. (2002). *Ecofisiología y Bioquímica del estrés en plantas*. Buenavista: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Benítez, I., & Nilver, R. (2015). *Tolerancia a heladas de clones y variedades de papa (Solanum tuberosum) en diferentes ambientes de la región de Huancavelica*. Jauja: Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Carter, J., & Lyndstrom, O. (1985). *Injury to potato leaves exposed to subzero temperatures in the absence of freezing*. Minnesota: Planta.
- Chen, P., & Burke, M. (1977). *The frost hardiness of several Solanum species in relation to freezing of water*. Chicago: Botanical Gazette Journal.
- Choque, E., Espinoza, R., & Ceballos, X. (2007). *Resistencia a helada en germoplasma nativa de Bolivia*. Oruro: Revista Latinoamericana de la Papa.
- Corpoica. (2006). *Manual Técnico del cultivo de papa*. Bogotá: Produccion.
- Cuesta, X., Andrade, H., Bastidas, O., & Sherwood, S. (2002). *Botánica y Mejoramiento Genético de la Papa*. Quito: INIAP.
- Daniel, F. (1986). *Fisiología de los efectos de la temperatura en las plantas*. Mexico DF: Christiansen.
- Demidchik, V., & Straltsova, D. (2014). *Stress-Induced electrolyte leakage: the role of K⁺ permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustments*. Oxford: Journal of Experimental Botany.
- Devaux, A., Ordinola, A., & Hibon, A. (2010). *El sector papa en la región andina: Diagnósticos y elementos para una visión estratégica en Bolivia, Ecuador y Perú*. Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Ekanayake, I. (1994). *Estudios sobre el Estrés por Sequía y la necesidad de Riego de la Papa*. Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Estrada, N. (2000). *La Biodiversidad en el Mejoramiento Genético de la papa*. La Paz: Emma Martínez.

- Fairlie, T., & Ortega, A. (1995). *Efecto de la resistencia de heladas simuladas en diferentes estados fenológicos y su impacto en el rendimiento de la papa*. Revista Latinoamericana de la papa.
- FAO. (2010). *El daño producido por las heladas: fisiología y temperaturas críticas. Protección contra las heladas fundamentos, práctica y economía*. Roma: FAO.
- Fernandez, G., & Johnston, M. (2006). *Crecimiento y Temperatura*. Chile: Ediciones Universidad de la Serena.
- Flint, H. (1966). *Index of Injury: A Useful Expression of Freezing Injury to Plant Tissues as Determined by the Electrolytic Method*. Vermont: University of Vermont, Journal Article No. 169.
- Griffith, M. (2004). Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *TRENDS in Plant Science*, 1360-1385.
- Hinojosa, L. (2009). *Estudio del comportamiento agronómico de genotipos de papas (Solanum spp) bajo estrés hídrico*. Quito: Universidad Central del Ecuador, Ciencias Agrícolas. .
- Hoagland, D., & Arnon, I. (1938). *The water-culture method for growing plants without soil*. California : University of California, College of Agriculture.
- Huamán, Z., & Spooner, D. (2002). *Reclassification of landrace populations of cultivated potato*. St. Louis: American Journal of Botany .
- INAHMI . (2011). *Estadísticas de las heladas. Porcentaje de heladas en el Ecuador Region Interandina*. Quito: INAHMI.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2011). *Estadísticas Agropecuarias del Ecuador*. Quito: INEC.
- Levitt, J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Massachusetts: Academic Press.
- Lhomme, J. P. (2003). *La Mitigación de heladas en los camellones en el altiplano andino*. Paris: Intituto Frances de estudios Andinos.
- Liu, W. (2013). The Low Temperature Induced Physiological Responses of Avena nuda L., a Cold-Tolerant Plant Species. *The Scientific World Journal*, 1-7.
- Lyons, J. (1973). *Chilling injury in plants*. Chicago: Annual Review of Plant Physiology.
- Magne, J., & García, R. (2009). *Variedades nativas de papa. Tecnología tangible para afrontar el efecto causado por la helada y sequía*. Revista Latinoamericana de la Papa.
- Magne, R., & García, J. (2015). *Variedades mejoradas de papa: tecnología tangible para afrontar el efecto causado por la helada y sequía*. Oruro: Revista Latinoamericana de la Papa.

- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). *Cold salinity and drought stresses: an overview*. Archives of Biochemistry and Biophysics.
- Maldonado, L., & Suárez, V. (2016). Nuevos senderos de la agroindustria de la papa. *Revista latinoamericana de la papa*, 1-20.
- Mange, J., Garcia, R., & Coca, J. (2009). *Tecnología tangible para afrontar el efecto causado por heladas*. Oruro: Revista Latinoamericana de la papa.
- Martinez, L., Rojas, L., & Ibacache, A. (2007). *Efectos de las heladas en la agricultura*. La Serena: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Molina, M. (2011). *Simulación de daño por helada mediante defoliación y congelación en cámara frigorífica en el cultivo de papa*. Navarra: Universidad Pública de Navarra.
- Montesdeoca, F., Panchi, N., Navarrete, I., & Pallo, E. (2013). *Guía Fotográfica de las Principales Plagas del Cultivo de papas en Ecuador*. Quito: CIP.
- Notz, A., & Ross, F. (1998). *Simulación de daños por defoliación a diferentes niveles y etapas de crecimiento y su efecto en el rendimiento de papa (Solanum tuberosum)*. Caracas: Boletín Agrícola Venezolano.
- Ochoa, C. (2001). *Las papas de Sudamérica*. La Paz: Plural Ediciones .
- Ortiz, L. Y. (2001). *Determinación del ácido absicico en papa (Solanum spp) como respuesta a bajas temperatura*. Bogota: Universidad Francisco Jose de Caldas.
- Palta, J., & Li, P. (1980). Alteration in membrane transport properties by freezing injuries in herbaceous plants: Evidence against rupture theory. *Physiologia Plantarum*, 169-175.
- Palta, J., Jung, G., & Bamberg, J. (2003). *Marker-assisted genetic analysis of non-acclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity in a backcross Solanum population*. Lima: American Journal of Potato Reserch.
- Perez, L. R. (2010). *Ecofisiología del cultivo de papa (solanum tuberosum)*. Bogota: Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, Pontificia Universidad Javeriana .
- Pino, M., & Chen, T. (2016). *Efecto de las Heladas en el cultivo de papa, y desafíos del mejoramiento genético*. Lima: Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA).
- Ponce, R. (2013). *Caracterización molecular de las variedades de papas cultivadas (Solanum spp.) más importantes del Perú mediante el uso de microsatélites*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *El Cultivo de Papa en Ecuador*. Lima: Iniap y CIP.
- Quiroz, R., Posada, C., & Yarleque, H. (2016). *Retos para la Producción Sostenible de Papas en un Clima Cambiante*. Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Rodríguez, E. (2009). *Teorías sobre la clasificación taxonómica de las papas cultivadas (Solanum L. sect. Petota Dumort.)*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Sánchez, J. (2014). *Introducción al Diseño Experimental*. Quito: Impresión Giro Diseño Creativo.

- Scott, G., Maldonado, L., & Suárez, V. (2016). Nuevos senderos de la agroindustria de la papa. . *Revista latinoamericana de la papa*, 1-20.
- Sinagap. (2017). *Boletín Situacional de Papa*. Quito: Ministerio de Agricultura Ganadería, Acuacultura y Pesca .
- Spooner, D., & Hijmans, R. (2001). Potato systematics and germplasm collecting. *American Journal of Potato Research*, 78: 237.
- Staubli, B., Wenger, R., & Wymann Von Dach, S. (2008). La papa y el cambio climático. *InfoResources Focus*, 1-08 .
- Sukumaran, N., & Weiser, J. (1971). *Freezing Injury in Potato Leaves*. St. Paul : Laboratory of Plant Hardiness, Department of Horticultural Science, University of Minnessota .
- Tapia, M., & Fies, M. (2013). *Agronomía de los cultivos andinos*. Lima: FAO y ANPE.
- Vega, S., & Bamberg, J. (1995). *Screening the U.S. potato collection for frost hardiness*. American Potato Journal.
- Velasco, C., & Flores, R. (2017). Estimación de pérdidas de pre y pos-cosecha en la cadena productiva de la papa en Ecuador. *Septimo Congreso Ecuatoriano de la Papa* (págs. 27-29). Tulcan : CIP.
- Wallis, J., & Wang, H. (1997). *Expression of a synthetic antifreeze protein in potato reduces electrolyte*. Washington: Plant Molecular Biology.

XIII. Anexos













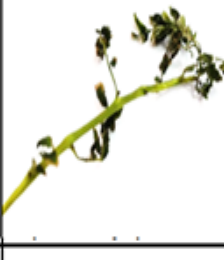




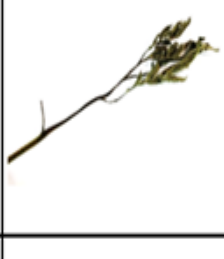

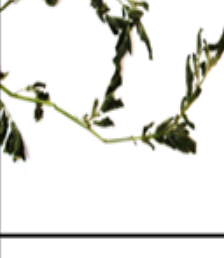










	15°C / 12 horas	4°C / 6 horas	-18°C / 2,5 min	-18°C / 5 min	-18°C / 12,5 min
99 071,17					
97-25-3					
39-90-62-15					
12-4-175					
07-32-15					
07-46-8					

Figura 8 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos: (99 071 17), (97 25 3), (39 90 62 15), (12 4 175), (07 32 15) y (07 46 8)

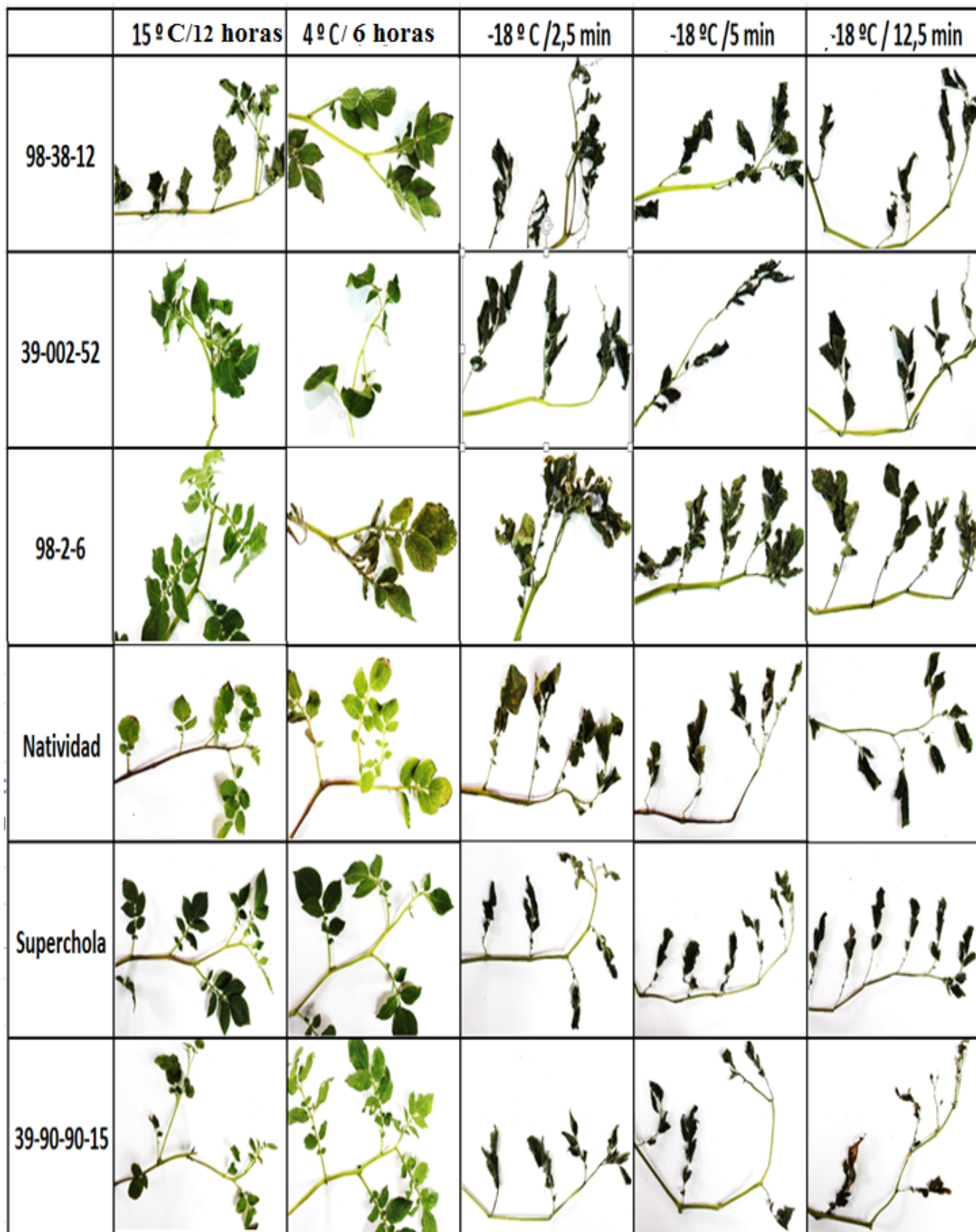


Figura 9 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos: (98 38 12), (39 002 52), (98 2 8), (Natividad), (Superchola) y (39 90 90 15)

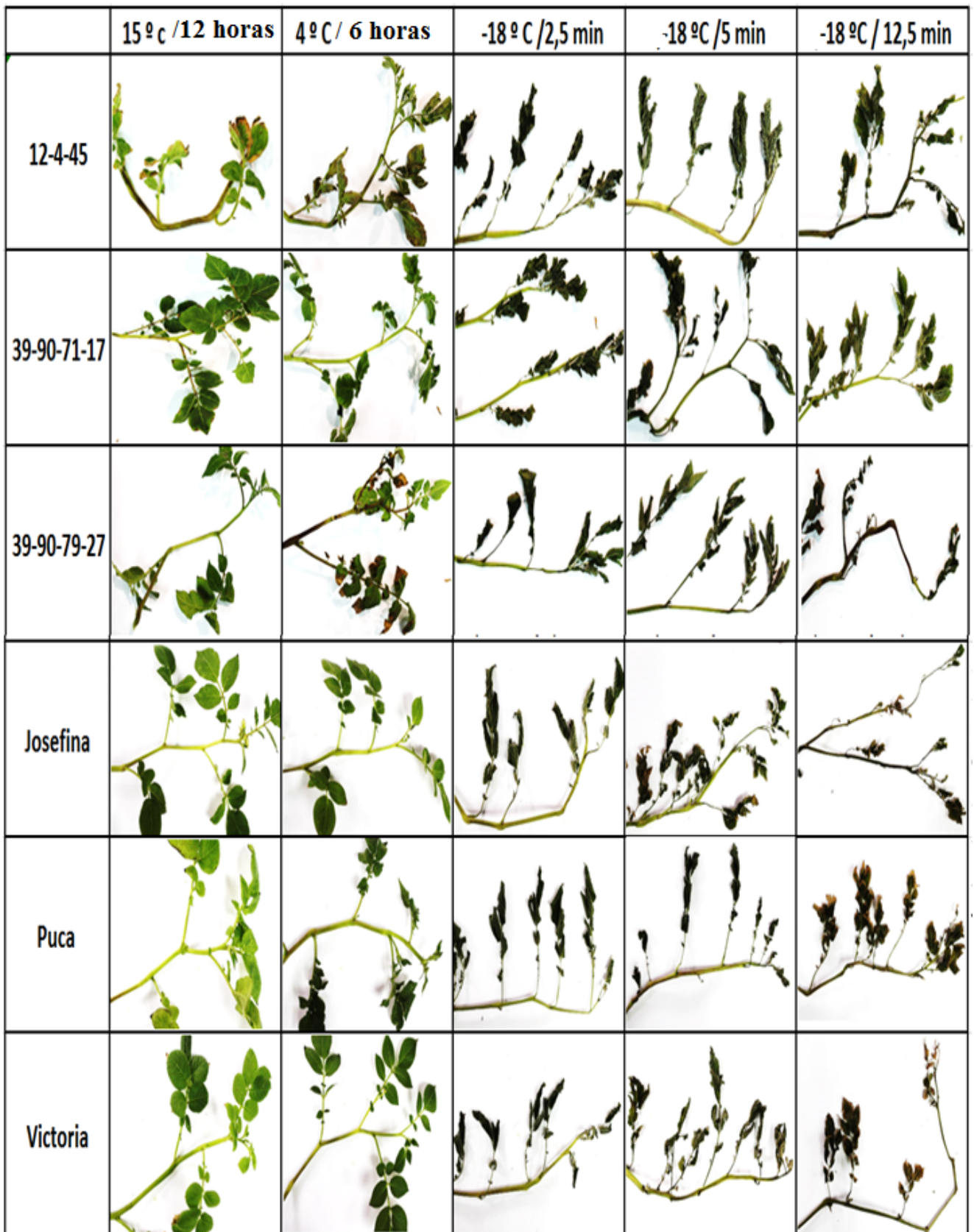


Figura 10 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos:(12 4 45), (39 90 71 17), (39 90 97 27), (Josefina), (Puca) y (Victoria).
















	15 °c / 12 horas	4 °C	-18 °C / 2,5 min	-18 °C / 5 min	-18 °C / 12,5 min
Estela					
Yana					
39 90 75,26					

Figura 11 Nivel de daño mediante la utilización de una metodología basada escala visual para los siguientes genotipos: (Estela), (Yana) y (39 90 75 26)

La Figura 12 indica a continuación los veintiún genotipos de papa versus el índice de daño obtenido a condiciones extremas de temperatura a -18°C durante un tiempo de exposición de 5 minutos. De igual manera se incluyen los rangos estadísticos obtenidos de la prueba de Tukey con el nivel de significancia del 95%.

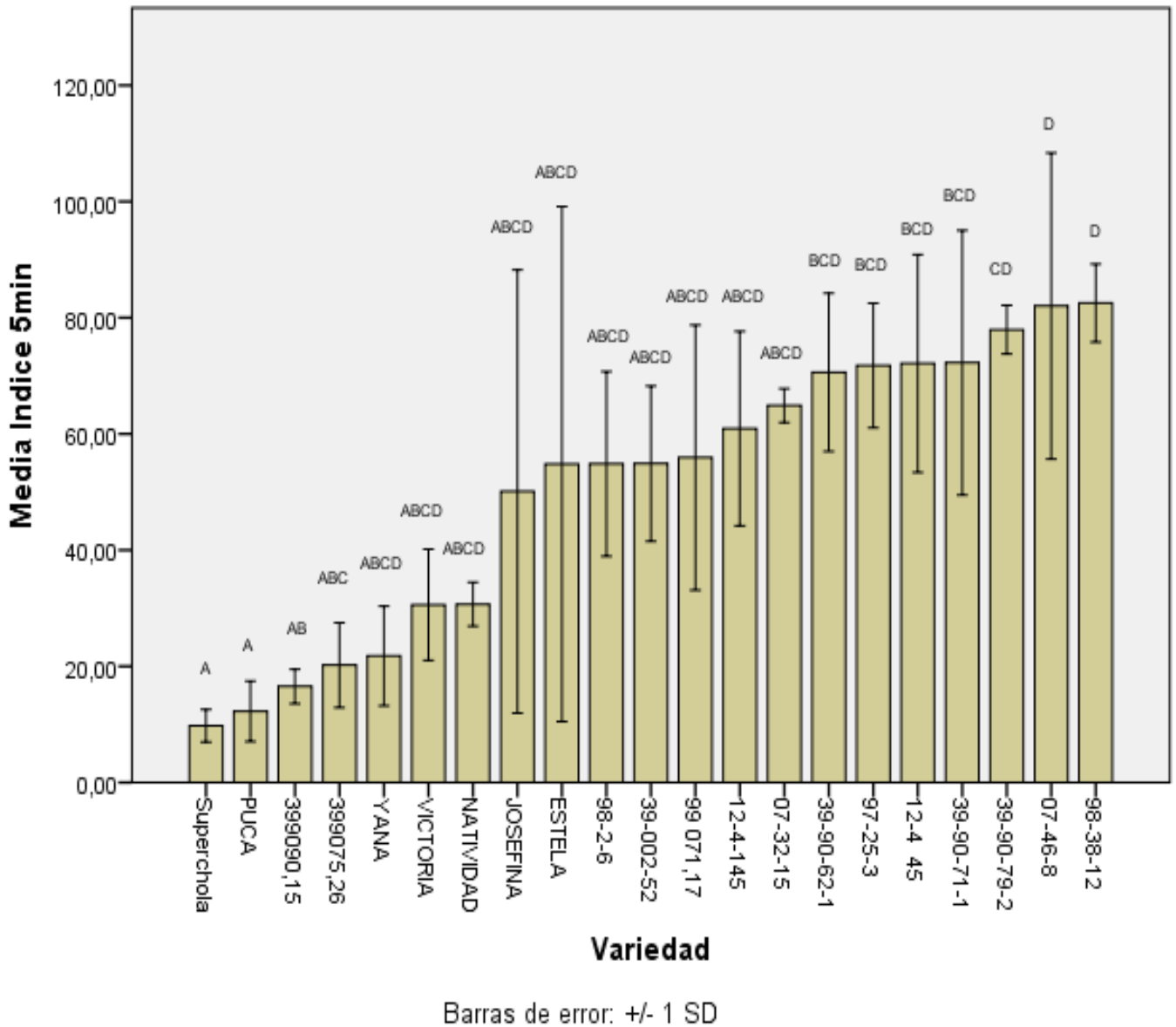


Figura 12 Rangos estadísticos de la prueba de Tukey sobre el Índice de daño por Fuga de Electrolitos en Veintiún Genotipos de Papa a condiciones controladas de -18°C durante un tiempo de exposición de 5 minutos.

Tabla 4 Daño por fuga de electrolitos medido a los 2.5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C.

ÍNDICE DE DAÑO A 2,5 MIN								
Variedad	Lt	Lk	Lo	Ld	Rt	Ro	Indice	Promedio
99 071,17	45,50	76,30	24,40	93,70	0,60	0,26	45,42	42,43
99 071,17	26,30	58,60	17,96	115,80	0,45	0,16	34,76	
99 071,17	43,50	78,80	13,25	90,30	0,55	0,15	47,50	
99 071,17	66,90	82,00	114,30	167,50	0,82	0,68	42,02	
97 25-3	25,60	71,60	27,60	93,40	0,36	0,30	8,81	13,02
97 25-3	43,70	82,90	32,60	76,90	0,53	0,42	17,92	
97 25-3	32,90	81,50	25,00	81,00	0,40	0,31	13,75	
97 25-3	26,90	66,00	30,40	92,20	0,41	0,33	11,62	
39-90-62-15	68,50	86,00	27,40	87,00	0,80	0,31	70,30	51,25
39-90-62-15	98,80	118,30	27,60	80,80	0,84	0,34	74,96	
39-90-62-15	49,10	92,30	30,20	79,50	0,53	0,38	24,53	
39-90-62-15	36,40	65,30	25,30	79,80	0,56	0,32	35,20	
12-4-145	61,30	83,90	22,60	108,30	0,73	0,21	65,96	51,63
12-4-145	54,30	94,30	26,30	107,40	0,58	0,24	43,83	
12-4-145	60,90	135,40	28,70	119,40	0,45	0,24	27,57	
12-4-145	92,00	118,00	23,30	81,70	0,78	0,29	69,18	
07-32-15	87,10	158,00	34,50	125,00	0,55	0,28	38,02	49,34
07-32-15	64,40	143,50	28,40	119,20	0,45	0,24	27,64	
07-32-15	104,10	151,70	23,50	106,00	0,69	0,22	59,68	
07-32-15	110,40	138,70	25,10	92,70	0,80	0,27	72,02	
07-46-8	40,40	95,20	21,80	130,20	0,42	0,17	30,86	51,35
07-46-8	75,20	145,00	19,26	103,30	0,52	0,19	40,83	
07-46-8	97,90	141,30	21,80	127,40	0,69	0,17	62,94	
07-46-8	84,00	109,60	26,50	131,70	0,77	0,20	70,76	
98-38-12	58,50	65,00	28,69	91,70	0,90	0,31	85,45	76,98
98-38-12	68,60	83,00	33,10	89,00	0,83	0,37	72,38	
98-38-12	66,10	78,90	39,14	86,20	0,84	0,45	70,28	
98-38-12	68,40	81,50	20,50	100,30	0,84	0,20	79,80	
39-002-52	48,00	48,00	39,60	96,90	1,00	0,41	100,00	51,44
39-002-52	75,50	102,20	36,90	76,40	0,74	0,48	49,47	
39-002-52	50,70	163,70	29,53	74,90	0,31	0,39	-13,96	
39-002-52	49,80	58,70	39,21	80,00	0,85	0,49	70,26	
98-2-6	50,90	65,40	31,50	87,00	0,78	0,36	65,25	60,92
98-2-6	69,40	78,50	28,60	80,80	0,88	0,35	82,06	
98-2-6	45,40	87,70	29,54	79,50	0,52	0,37	23,25	
98-2-6	75,10	88,50	34,83	79,80	0,85	0,44	73,13	
12-4 45	81,30	108,60	41,20	114,50	0,75	0,36	60,73	54,30
12-4 45	130,00	167,60	41,50	103,50	0,78	0,40	62,55	
12-4 45	71,60	98,30	66,70	121,80	0,73	0,55	39,96	
12-4 45	68,10	96,30	47,30	130,00	0,71	0,36	53,97	
39-90-71-17	119,30	143,60	28,10	93,40	0,83	0,30	75,80	66,40
39-90-71-17	70,60	88,30	20,00	76,90	0,80	0,26	72,91	
39-90-71-17	98,20	120,40	25,10	81,00	0,82	0,31	73,28	
39-90-71-17	55,90	85,90	35,10	92,20	0,65	0,38	43,61	
39-90-79-27	81,10	128,60	30,60	109,70	0,63	0,28	48,77	49,15
39-90-79-27	101,40	125,30	55,40	129,80	0,81	0,43	66,72	
39-90-79-27	93,50	131,80	52,00	121,40	0,71	0,43	49,17	
39-90-79-27	79,10	118,30	75,60	147,30	0,67	0,51	31,93	
NATIVIDAD	56,20	213,78	18,32	213,00	0,26	0,09	19,35	17,72
NATIVIDAD	29,40	113,40	36,78	267,60	0,26	0,14	14,12	
NATIVIDAD	62,89	231,37	21,90	235,00	0,27	0,09	19,70	
YANA	43,20	267,89	23,50	276,00	0,16	0,09	8,32	9,21
YANA	52,00	165,78	34,74	169,10	0,31	0,21	13,62	
YANA	45,89	266,00	32,60	266,00	0,17	0,12	5,69	
PUCA	38,50	218,76	28,50	218,00	0,18	0,13	5,21	5,91
PUCA	34,67	301,37	21,70	281,00	0,12	0,08	4,10	
PUCA	56,62	275,00	36,50	275,00	0,21	0,13	8,44	
ESTELA	98,10	217,67	23,50	214,00	0,45	0,11	38,29	24,54
ESTELA	84,60	298,43	31,50	306,00	0,28	0,10	20,13	
ESTELA	78,95	267,37	36,32	279,00	0,30	0,13	18,98	
ESTELA	56,32	196,70	19,53	196,70	0,29	0,10	20,77	
JOSEFINA	60,40	213,00	46,80	213,00	0,28	0,22	8,18	18,86
JOSEFINA	84,00	156,00	55,60	289,00	0,54	0,19	42,85	
JOSEFINA	57,00	189,65	49,20	189,65	0,30	0,26	5,55	
VICTORIA	52,30	231,76	30,11	230,00	0,23	0,13	10,90	7,82
VICTORIA	48,50	289,64	39,40	289,00	0,17	0,14	3,60	
VICTORIA	49,40	267,37	28,70	287,00	0,18	0,10	9,42	
VICTORIA	56,70	278,00	39,10	278,00	0,20	0,14	7,37	
Superchola	22,89	221,30	18,32	219,38	0,10	0,08	2,17	2,14
Superchola	21,26	197,30	19,36	198,19	0,11	0,10	1,12	
Superchola	18,26	185,30	15,36	189,30	0,10	0,08	1,89	
Superchola	23,45	175,90	18,36	178,30	0,13	0,10	3,38	
399090,15	42,17	197,39	37,20	198,49	0,21	0,19	3,23	6,54
399090,15	49,36	177,38	22,50	178,38	0,28	0,13	17,41	
399090,15	32,36	175,38	28,60	173,93	0,18	0,16	2,40	
399090,15	27,36	210,28	21,65	212,38	0,13	0,10	3,14	
399075,26	22,46	198,30	17,24	210,30	0,11	0,08	3,41	6,29
399075,26	20,17	213,30	15,06	218,39	0,09	0,07	2,75	
399075,26	49,36	210,38	16,87	208,40	0,23	0,08	16,72	
399075,26	18,35	218,80	13,46	215,80	0,08	0,06	2,29	

Tabla 5 ANOVA de Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 2.5 minutos

ANOVA

Índice de Daño

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	43711,341	20	2185,567	7,261	0,000
Dentro de grupos	17759,121	59	301,002		
Total	61470,462	79			

Tabla 6 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 2.5 minutos

Índice de Daño

HSD Tukey^{a,b}

Variedad	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Superchola	4	2,1400					
PUCA	3	5,9167	5,9167				
399075,26	4	6,2925	6,2925				
399090,15	4	6,5450	6,5450				
VICTORIA	4	7,8225	7,8225	7,8225			
YANA	3	9,2100	9,2100	9,2100			
97-25-3	4	13,0250	13,0250	13,0250			
NATIVIDAD	3	17,7233	17,7233	17,7233	17,7233		
JOSEFINA	3	18,8600	18,8600	18,8600	18,8600		
ESTELA	4	24,5425	24,5425	24,5425	24,5425	24,5425	
99 071,17	4	42,4250	42,4250	42,4250	42,4250	42,4250	42,4250
39-90-79-2	4	49,1475	49,1475	49,1475	49,1475	49,1475	49,1475
07-32-15	4	49,3400	49,3400	49,3400	49,3400	49,3400	49,3400
39-90-62-1	4		51,2475	51,2475	51,2475	51,2475	51,2475
07-46-8	4		51,3475	51,3475	51,3475	51,3475	51,3475
39-002-52	4		51,4425	51,4425	51,4425	51,4425	51,4425
12-4-145	4		51,6350	51,6350	51,6350	51,6350	51,6350
12-4 45	4			54,3025	54,3025	54,3025	54,3025
98-2-6	4				60,9225	60,9225	60,9225
39-90-71-1	4					66,4000	66,4000
98-38-12	4						76,9775
Sig.		,051	,069	,059	,115	,147	,448

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,761.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla 7 Daño por fuga de electrolitos medido a los 5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C

Variedad	ÍNDICE DE DAÑO A 5 MIN							Promedio
	Lt	Lk	Lo	Ld	Rt	Ro	Indice	
99 071,17	76,30	102,80	24,40	93,70	0,74	0,26	65,15	58,50
99 071,17	48,30	67,60	17,96	115,80	0,71	0,16	66,21	
99 071,17	72,40	94,40	13,25	90,30	0,77	0,15	72,69	
99 071,17	70,60	90,80	114,30	167,50	0,78	0,68	29,96	
97-25-3	43,40	91,70	27,60	93,40	0,47	0,30	25,23	60,14
97-25-3	60,50	76,30	32,60	76,90	0,79	0,42	64,05	
97-25-3	61,10	79,00	25,00	81,00	0,77	0,31	67,23	
97-25-3	85,10	95,30	30,40	92,20	0,89	0,33	84,03	
39-90-62-15	87,90	98,50	27,40	87,00	0,89	0,31	84,29	72,67
39-90-62-15	179,30	208,20	27,60	80,80	0,86	0,34	78,92	
39-90-62-15	196,00	240,00	30,20	79,50	0,82	0,38	70,44	
39-90-62-15	89,60	126,80	25,30	79,80	0,71	0,32	57,04	
12-4-145	98,90	146,00	22,60	108,30	0,68	0,21	59,23	64,59
12-4-145	106,30	127,00	26,30	107,40	0,84	0,24	78,42	
12-4-145	68,70	84,30	28,70	119,40	0,81	0,24	75,64	
12-4-145	102,65	169,00	23,30	81,70	0,61	0,29	45,08	
07-32-15	91,60	109,70	34,50	125,00	0,84	0,28	77,21	67,97
07-32-15	88,50	123,90	28,40	119,20	0,71	0,24	62,49	
07-32-15	110,40	153,30	23,50	106,00	0,72	0,22	64,04	
07-32-15	145,10	189,00	25,10	92,70	0,77	0,27	68,15	
07-46-8	53,20	86,50	21,80	130,20	0,62	0,17	53,76	82,88
07-46-8	89,45	101,50	19,26	103,30	0,88	0,19	85,41	
07-46-8	96,60	108,80	21,80	127,40	0,89	0,17	86,47	
07-46-8	102,70	98,10	26,50	131,70	1,05	0,20	105,87	
98-38-12	86,70	92,90	28,69	91,70	0,93	0,31	90,29	80,89
98-38-12	67,10	77,60	33,10	89,00	0,86	0,37	78,46	
98-38-12	68,30	78,60	39,14	86,20	0,87	0,45	76,00	
98-38-12	87,40	105,10	20,50	100,30	0,83	0,20	78,83	
39-002-52	61,10	74,20	39,60	96,90	0,82	0,41	70,14	55,80
39-002-52	67,00	85,30	36,90	76,40	0,79	0,48	58,50	
39-002-52	70,60	101,90	29,53	74,90	0,69	0,39	49,29	
39-002-52	77,20	107,10	39,21	80,00	0,72	0,49	45,25	
98-2-6	75,60	121,80	31,50	87,00	0,62	0,36	40,54	58,31
98-2-6	66,80	81,60	28,60	80,80	0,82	0,35	71,93	
98-2-6	96,40	120,00	29,54	79,50	0,80	0,37	68,70	
98-2-6	96,70	132,50	34,83	79,80	0,73	0,44	52,05	
12-4 45	74,70	83,10	41,20	114,50	0,90	0,36	84,21	65,14
12-4 45	77,20	116,00	41,50	103,50	0,67	0,40	44,16	
12-4 45	90,50	98,70	66,70	121,80	0,92	0,55	81,63	
12-4 45	66,00	96,30	47,30	130,00	0,69	0,36	50,54	
39-90-71-17	125,60	133,80	28,10	93,40	0,94	0,30	91,23	72,51
39-90-71-17	102,30	121,60	20,00	76,90	0,84	0,26	78,55	
39-90-71-17	80,80	127,40	25,10	81,00	0,63	0,31	47,00	
39-90-71-17	141,60	169,70	35,10	92,20	0,83	0,38	73,26	
39-90-79-27	144,00	158,40	30,60	109,70	0,91	0,28	87,39	80,31
39-90-79-27	71,30	82,60	55,40	129,80	0,86	0,43	76,13	
39-90-79-27	132,30	146,80	52,00	121,40	0,90	0,43	82,72	
39-90-79-27	108,20	123,20	75,60	147,30	0,88	0,51	74,99	
NATIVIDAD	72,50	221,47	18,32	213,00	0,33	0,09	26,41	29,73
NATIVIDAD	88,70	213,79	36,78	267,60	0,41	0,14	32,17	
NATIVIDAD	91,78	231,37	21,90	235,00	0,40	0,09	33,47	
NATIVIDAD	73,23	153,38	43,20	151,30	0,48	0,29	26,86	
YANA	49,80	256,84	23,50	276,00	0,19	0,09	11,89	13,49
YANA	69,10	165,78	34,74	169,10	0,42	0,21	26,60	
YANA	56,12	186,73	34,65	201,00	0,30	0,17	15,48	
PUCA	40,40	218,37	28,50	218,00	0,19	0,13	6,24	9,53
PUCA	58,60	267,37	23,56	291,00	0,22	0,08	15,04	
PUCA	43,75	302,37	21,70	281,00	0,14	0,08	7,31	
ESTELA	210,70	220,38	23,50	214,00	0,96	0,11	95,07	73,64
ESTELA	183,67	278,37	31,50	306,00	0,66	0,10	62,08	
ESTELA	147,70	267,37	36,32	279,00	0,55	0,13	48,54	
ESTELA	168,60	187,37	19,53	196,70	0,90	0,10	88,88	
JOSEFINA	68,21	214,27	46,80	213,00	0,32	0,22	12,64	24,28
JOSEFINA	162,45	273,38	55,60	267,00	0,59	0,21	48,75	
JOSEFINA	85,80	163,73	49,20	189,65	0,52	0,26	35,73	
VICTORIA	55,70	264,37	30,11	230,00	0,21	0,13	9,18	21,28
VICTORIA	74,89	245,38	39,40	289,00	0,31	0,14	19,55	
VICTORIA	109,80	256,38	28,70	287,00	0,43	0,10	36,47	
VICTORIA	83,40	267,37	39,10	278,00	0,31	0,14	19,93	
Superchola	34,67	217,30	18,32	219,38	0,16	0,08	8,30	8,81
Superchola	32,87	193,40	19,36	198,19	0,17	0,10	8,01	
Superchola	31,35	187,70	15,36	189,30	0,17	0,08	9,35	
Superchola	33,46	177,10	18,36	178,30	0,19	0,10	9,58	
399090,15	60,09	194,30	37,20	198,49	0,31	0,19	15,00	13,16
399090,15	46,37	179,30	22,50	178,38	0,26	0,13	15,16	
399090,15	49,36	172,80	28,60	173,93	0,29	0,16	14,51	
399090,15	37,17	214,30	21,65	212,38	0,17	0,10	7,96	
399075,26	38,80	198,30	17,24	210,30	0,20	0,08	12,38	18,40
399075,26	58,10	217,30	15,06	218,39	0,27	0,07	21,31	
399075,26	66,37	202,30	16,87	208,40	0,33	0,08	26,89	
399075,26	39,37	213,40	13,46	215,80	0,18	0,06	13,02	

Tabla 8 Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 5 minutos

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	45608,880	20	2280,444	7,872	,000
Dentro de grupos	17092,648	59	289,706		
Total	62701,528	79			

Tabla 9 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 5 minutos

HSD Tukey^{a,b}

Variedad	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Superchola	4	9,6700					
PUCA	3	12,2533	12,2533				
399090,15	4	16,1500	16,1500	16,1500			
399075,26	4	17,1350	17,1350	17,1350			
YANA	3	21,7833	21,7833	21,7833	21,7833		
VICTORIA	4	25,2325	25,2325	25,2325	25,2325		
NATIVIDAD	3	30,6833	30,6833	30,6833	30,6833	30,6833	
JOSEFINA	3	50,0900	50,0900	50,0900	50,0900	50,0900	50,0900
ESTELA	4	53,2500	53,2500	53,2500	53,2500	53,2500	53,2500
39-002-52	4	55,7950	55,7950	55,7950	55,7950	55,7950	55,7950
98-2-6	4		58,3050	58,3050	58,3050	58,3050	58,3050
99 071,17	4		58,5025	58,5025	58,5025	58,5025	58,5025
97-25-3	4			60,1350	60,1350	60,1350	60,1350
12-4-145	4				64,5925	64,5925	64,5925
12-4 45	4				65,1350	65,1350	65,1350
07-32-15	4				67,9725	67,9725	67,9725
39-90-71-1	4					72,5100	72,5100
39-90-62-1	4					72,6725	72,6725
39-90-79-2	4						80,3075
98-38-12	4						80,8950
07-46-8	4						82,8775
Sig.		,053	,051	,083	,052	,124	,510

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,761.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla 10 Daño por fuga de electrolitos medido a los 12.5 minutos expuestos a una temperatura de -18°C.

ÍNDICE DE DAÑO A 12,5 MIN								
Variedad	Lt	Lk	Lo	Ld	Rt	Ro	Índice	Promedio
99 071,17	78,80	88,30	24,40	93,70	0,89	0,26	85,45	59,95
99 071,17	67,90	88,50	17,96	115,80	0,77	0,16	72,45	
99 071,17	72,30	85,50	13,25	90,30	0,85	0,15	81,91	
97-25-3	61,20	103,70	27,60	93,40	0,59	0,30	41,83	55,07
97-25-3	65,80	89,70	32,60	76,90	0,73	0,42	53,75	
97-25-3	66,80	79,30	25,00	81,00	0,84	0,31	77,20	
97-25-3	55,80	86,10	30,40	92,20	0,65	0,33	47,50	
39-90-62-15	71,90	81,50	27,40	87,00	0,88	0,31	82,81	79,52
39-90-62-15	88,50	102,20	27,60	80,80	0,87	0,34	79,64	
39-90-62-15	91,40	106,00	30,20	79,50	0,86	0,38	77,79	
39-90-62-15	75,80	89,30	25,30	79,80	0,85	0,32	77,86	
12-4-145	89,50	92,00	22,60	108,30	0,97	0,21	96,57	99,15
12-4-145	114,20	117,00	26,30	107,40	0,98	0,24	96,83	
12-4-145	76,70	78,30	28,70	119,40	0,98	0,24	97,31	
12-4-145	113,60	109,00	23,30	81,70	1,04	0,29	105,90	
07-32-15	98,40	94,00	34,50	125,00	1,05	0,28	106,47	96,53
07-32-15	98,40	89,90	28,40	119,20	1,09	0,24	112,41	
07-32-15	82,60	94,00	23,50	106,00	0,88	0,22	84,42	
07-32-15	86,00	98,30	25,10	92,70	0,87	0,27	82,84	
07-46-8	70,10	91,40	21,80	130,20	0,77	0,17	72,01	98,20
07-46-8	103,60	101,00	19,26	103,30	1,03	0,19	103,16	
07-46-8	110,80	98,00	21,80	127,40	1,13	0,17	115,76	
07-46-8	115,70	114,00	26,50	131,70	1,01	0,20	101,87	
98-38-12	139,20	145,60	28,69	91,70	0,96	0,31	93,60	83,82
98-38-12	122,90	138,50	33,10	89,00	0,89	0,37	82,07	
98-38-12	109,30	127,00	39,14	86,20	0,86	0,45	74,47	
98-38-12	133,40	151,30	20,50	100,30	0,88	0,20	85,13	
39-002-52	89,30	97,30	39,60	96,90	0,92	0,41	86,10	78,76
39-002-52	96,80	106,20	36,90	76,40	0,91	0,48	82,88	
39-002-52	118,80	132,90	29,53	74,90	0,89	0,39	82,49	
39-002-52	86,80	106,60	39,21	80,00	0,81	0,49	63,57	
98-2-6	76,80	105,10	31,50	87,00	0,73	0,36	57,79	62,64
98-2-6	97,10	112,10	28,60	80,80	0,87	0,35	79,29	
98-2-6	84,80	113,00	29,54	79,50	0,75	0,37	60,29	
98-2-6	86,50	117,50	34,83	79,80	0,74	0,44	53,18	
12-4 45	108,40	130,50	41,20	114,50	0,83	0,36	73,55	68,93
12-4 45	101,10	122,60	41,50	103,50	0,82	0,40	70,73	
12-4 45	69,60	83,50	66,70	121,80	0,83	0,55	63,20	
12-4 45	146,20	183,20	47,30	130,00	0,80	0,36	68,25	
39-90-71-17	129,30	130,50	28,10	93,40	0,99	0,30	98,68	93,39
39-90-71-17	113,40	123,00	20,00	76,90	0,92	0,26	89,45	
39-90-71-17	95,30	102,40	25,10	81,00	0,93	0,31	89,95	
39-90-71-17	163,57	168,30	35,10	92,20	0,97	0,38	95,46	
39-90-79-27	164,40	170,10	30,60	109,70	0,97	0,28	95,35	85,51
39-90-79-27	90,00	97,20	55,40	129,80	0,93	0,43	87,08	
39-90-79-27	156,30	168,50	52,00	121,40	0,93	0,43	87,33	
39-90-79-27	123,80	143,10	75,60	147,30	0,87	0,51	72,29	
NATIVIDAD	131,10	213,78	18,32	213,00	0,61	0,09	57,69	57,94
NATIVIDAD	145,80	213,79	36,78	267,60	0,68	0,14	63,13	
NATIVIDAD	132,80	231,37	21,90	235,00	0,57	0,09	53,02	
YANA	65,12	267,89	23,50	276,00	0,24	0,09	17,26	38,00
YANA	109,32	165,78	34,74	169,10	0,66	0,21	57,14	
YANA	87,76	186,73	32,60	266,00	0,47	0,12	39,60	
PUCA	65,87	218,76	28,50	218,00	0,30	0,13	19,60	20,95
PUCA	78,43	276,67	21,70	281,00	0,28	0,08	22,35	
PUCA	86,31	275,00	36,50	275,00	0,31	0,13	20,88	
ESTELA	120,76	217,67	23,50	214,00	0,55	0,11	49,99	74,29
ESTELA	215,67	298,43	31,50	306,00	0,72	0,10	69,09	
ESTELA	235,98	267,37	36,32	279,00	0,88	0,13	86,50	
ESTELA	181,76	196,70	19,53	196,70	0,92	0,10	91,57	
JOSEFINA	137,60	213,00	46,80	213,00	0,65	0,22	54,63	41,19
JOSEFINA	169,56	271,36	55,60	289,00	0,62	0,19	53,55	
JOSEFINA	78,54	210,37	49,20	189,65	0,37	0,26	15,38	
VICTORIA	98,52	231,76	30,11	230,00	0,43	0,13	33,85	36,52
VICTORIA	103,78	289,64	39,40	289,00	0,36	0,14	25,70	
VICTORIA	136,78	267,37	28,70	287,00	0,51	0,10	45,73	
VICTORIA	136,56	278,00	39,10	278,00	0,49	0,14	40,80	
Superchola	55,34	221,30	18,32	219,38	0,25	0,08	18,17	20,80
Superchola	61,34	197,30	19,36	198,19	0,31	0,10	23,63	
Superchola	53,13	185,30	15,36	189,30	0,29	0,08	22,37	
Superchola	48,10	175,90	18,36	178,30	0,27	0,10	19,00	
399090,15	100,20	197,39	37,20	198,49	0,51	0,19	39,41	37,40
399090,15	86,37	177,38	22,50	178,38	0,49	0,13	41,29	
399090,15	81,10	175,38	28,60	173,93	0,46	0,16	35,66	
399090,15	84,20	210,28	21,65	212,38	0,40	0,10	33,24	
399075,26	60,30	198,30	17,24	210,30	0,30	0,08	24,19	29,95
399075,26	75,44	213,30	15,06	218,39	0,35	0,07	30,58	
399075,26	91,34	210,38	16,87	208,40	0,43	0,08	38,43	
399075,26	68,20	218,80	13,46	215,80	0,31	0,06	26,59	

Tabla 11 Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 12.5 minutos

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	48024,952	20	2401,248	13,202	,000
Dentro de grupos	10549,564	58	181,889		
Total	58574,515	78			

Tabla 12 Prueba de Tukey para Índice de Daño pro Fuga de Electrolitos a condiciones controladas de -18°C por un tiempo de exposición de 12.5 minutos

HSD Tukey^{a,b}

Variedad	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Superchola	3	21,6667								
399075,26	4	28,4425	28,4425							
PUCA	3	31,0733	31,0733	31,0733						
399090,15	4	33,5950	33,5950	33,5950	33,5950					
JOSEFINA	3	34,2600	34,2600	34,2600	34,2600					
VICTORIA	4	37,9100	37,9100	37,9100	37,9100	37,9100				
YANA	3	38,7800	38,7800	38,7800	38,7800	38,7800	38,7800			
NATIVIDA D	3	44,4700	44,4700	44,4700	44,4700	44,4700	44,4700	44,4700		
97-25-3	4		65,3150	65,3150	65,3150	65,3150	65,3150	65,3150	65,3150	
98-2-6	4			66,5775	66,5775	66,5775	66,5775	66,5775	66,5775	66,5775
99 071,17	4				70,4100	70,4100	70,4100	70,4100	70,4100	70,4100
39-002-52	4					71,6825	71,6825	71,6825	71,6825	71,6825
12-4 45	4						75,2150	75,2150	75,2150	75,2150
ESTELA	4						75,4475	75,4475	75,4475	75,4475
39-90-79-2	4							76,0975	76,0975	76,0975
98-38-12	4								81,9425	81,9425
39-90-62-1	4								82,9650	82,9650
07-32-15	4								87,9200	87,9200
39-90-71-1	4								92,5525	92,5525
12-4-145	4								101,6275	101,6275
07-46-8	4									103,5975
Sig.		,746	,053	,076	,053	,117	,056	,191	,061	,050

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,706.