

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Evaluación de los geles de *Opuntia ficus indica* "tuna" y *Aloe vera* "sábila" como soporte sólido para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa"
Ayacucho - 2011.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA**

Especialidad de Biotecnología

Presentado Por:

Bach. ZILDA CHIPANA REZZA

AYACUCHO - PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.Nº 098-2013-UNSCH-FCB-D

Bach. Zilda CHIPANA REZZA

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y diez minutos de la tarde del día viernes veintiséis de julio del año dos mil trece, reunidos en el Auditorium del Departamento de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Bajo la presidencia (e) del MSc. César Isaías Magallanes Magallanes y como miembros del Jurado Calificador: Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich, Mg. Gilmar Peña Rojas, Mg. Paula García Godos Alcázar (asesora) y Biga. Sonia Haydeé Palomino Felices como cuarto jurado y como secretaria Docente (e) en mérito a la R.D. N° 098 – 2013 – UNSCH – FCB – D de fecha diez de julio de dos mil trece, quienes recepcionaron la sustentación de la tesis titulada: "Evaluación de los geles de *Opuntia ficus indica* "tuna" y *Aloe vera* "sábila" como soporte sólido para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa" Ayacucho – 2011". Presentado por la Bachiller Zilda Chipana Rezza de la Escuela de Formación profesional de Biología, quien pretende optar el título de bióloga con Especialidad de Biotecnología.

Luego de verificar la documentación correspondiente, el Señor Presidente del Jurado Calificador (e) indicó a la Srta. Sustentante que la investigación tiene cuarenta y cinco minutos de exposición tal como dispone el reglamento.


Concluida la exposición del trabajo de investigación, el Señor presidente invitó a los miembros del Jurado Calificador a solicitar las aclaraciones, preguntas u observaciones que crean por conveniente.

Concluida esta etapa, el Señor Presidente del Jurado Calificador (e) invitó a la Srta. Sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente las instalaciones del Auditorium, para que los miembros del Jurado Calificador pueda deliberar y calificar el trabajo de exposición en privado. Arribándose a los siguientes resultados:


Miembro del Jurado	Exposición	Respuesta a	
		Preguntas	Promedio
Bigo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich	15	15	15
Mg. Gilmar Peña Rojas	15	14	15
Mg. Paula García Godos Alcázar	19	17	18
Biga. Sonia Haydeé Palomino Felices	18	18	18
PROMEDIO FINAL:			17

Luego de concluida la etapa de evaluación la Srta. Sustentante obtuvo la calificación promedio de **DIECISIETE (17)** de la cual dan fe los miembros del Jurado Calificador, estampando su firma al pie del presente documento.


Siendo las seis y treinta minutos de la tarde, se dio por concluido el presente acto académico.



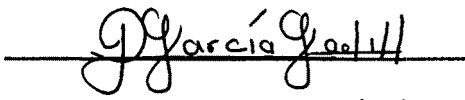
MSc. César Isaiás Magallanes Magallanes
Presidente (e)



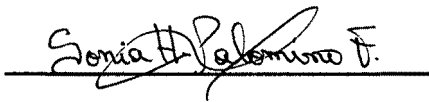
Blgo. Tomás Y. Miranda Tomasevich
Miembro



Mg. Gilmar Peña Rojas
Miembro



Mg. Paula García Godos Alcázar
Miembro- Asesora



Blga. Sonia H. Palomino Felices
Miembro-Secretaria Docente (e)

DEDICATORIA

*A Dios quien me da la fuerza
necesaria para hacer realidad
mis sueños y de regalarme una
familia maravillosa.*

*A mis padres y hermanos por
el apoyo que siempre me han
brindado.*

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, institución reconocida como *Alma Máter* de Ayacucho.

A la Escuela de Formación Profesional de Biología, a la plana docente por la inmensurable labor de enseñanza y experiencias impartidas en las aulas universitarias.

A mi asesora Mg. Paula García Godos Alcázar por su apoyo y confianza en mi trabajo.

A la señora María Mendoza León, por su buena voluntad y apoyo. Por sus valiosas sugerencias y sobre todo por sus palabras de aliento.

Debo agradecer de manera especial y sincera al profesor Reynan Córdor Alarcón por su importante aporte, disponibilidad y paciencia en la elaboración de este trabajo de investigación.

Deseo manifestar mis sinceros agradecimientos a mis amigos que en determinado momento colaboraron con el desarrollo de mi tesis. Gracias por brindarme su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 ANTECEDENTES	4
2.2 <i>Opuntia ficus indica</i> “tuna”	5
2.3 <i>Aloe vera</i> “sábila”	11
2.4 <i>Solanum tuberosum</i> “papa”	16
2.5 Cultivo de tejidos vegetales <i>in vitro</i>	18
2.6 Micropropagación	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 Ubicación del estudio	23
3.2 Obtención y selección del material experimental	23
3.3 Extracción y caracterización de geles de sábila y tuna	24
3.4 Caracterización de la materia prima	26
3.5 Inhibición de la oxidación de geles	26
3.6 Rendimiento de la extracción de geles	27
3.7 Prueba de gelificación	27
3.8 Elección del medio de cultivo	29
3.9 Micropropagación de <i>Solanum tuberosum</i> “papa”	29
3.10 Condiciones de cultivo <i>in vitro</i>	30
3.11 Evaluaciones	30
3.12 Análisis estadístico	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIONES	40
VI. CONCLUSIONES	56
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1	Composición química de cladodios de tuna	9
Tabla 2	Composición química del gel de tuna	10
Tabla 3	Componentes químicos de la planta de sábila	14
Tabla 4	Concentraciones de antioxidante para el gel de sábila	27
Tabla 5	Concentraciones de geles para la sustitución parcial de agar	28
Tabla 6	Concentraciones de geles para la sustitución total de agar	28
Tabla 7	Tratamientos empleados para la micropropagación de <i>Solanum tuberosum</i> "papa"	30
Tabla 8	Parámetro evaluados para la caracterización de la materia prima de sábila y tuna	33
Tabla 9	Promedio de índices de desarrollo vegetativo de tres variedades de <i>Solanum tuberosum</i> "papa" en medios de cultivo con sustitución parcial y total de agar con geles de sábila y tuna	39
Tabla 10	Composición de los stocks en la preparación del medio de cultivo Murashige y Skoog	63
Tabla 11	Cantidad de Stoks y preparación de 1 litro de medio Murashige y Skoog	64
Tabla 12	Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación	65
Tabla 13	Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo	66
Tabla 14	Análisis de varianza para la variable número de hojas de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación	66
Tabla 15	Prueba de Duncan para la variable número de hojas	67
Tabla 16	Análisis de varianza para la variable número de nudos de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación	68
Tabla 17	Prueba de Duncan para la variable número de nudos	69
Tabla 18	Análisis de varianza para la variable número de raíces de	69

	los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación	
Tabla 19	Prueba de Duncan para la variable número de raíces	70
Tabla 20	Análisis de varianza para la variable tamaño de raíces de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación	71
Tabla 21	Prueba de Duncan para la variable tamaño de raíces	72
Tabla 22	Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de explantes de papa en los tipos de medio de cultivo	72
Tabla 23	Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo	73
Tabla 24	Análisis de varianza para la variable número de hojas en los tipos de medio de cultivo	73
Tabla 25	Prueba de Duncan para la variable número de hojas	74
Tabla 26	Análisis de varianza para la variable número de nudos en los tipos de medio de cultivo	74
Tabla 27	Prueba de Duncan para la variable número de nudos	75
Tabla 28	Análisis de varianza para la variable número de raíces en los tipos de medio de cultivo	75
Tabla 29	Prueba de Duncan para la variable número de raíces	76
Tabla 30	Análisis de varianza para la variable tamaño de raíces en los tipos de medio de cultivo	76
Tabla 31	Prueba de Duncan para la variable tamaño de raíces	77
Tabla 32	Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de explantes de papa en las diferentes variedades	77
Tabla 33	Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo	78
Tabla 34	Análisis de varianza para la variable número de hojas en las diferentes variedades	78
Tabla 35	Prueba de Duncan para la variable número de hojas	79
Tabla 36	Análisis de varianza para la variable número de nudos en las diferentes variedades	79
Tabla 37	Prueba de Duncan para la variable número de nudos	80
Tabla 38	Análisis de varianza para la variable número de raíces de explantes en las diferentes variedades	80
Tabla 39	Prueba de Duncan para la variable número de raíces	81

Tabla 40	Análisis de varianza para la variable tamaño de raíces en las diferentes variedades	81
Tabla 41	Prueba de Duncan para la variable longitud de raíces	82
Tabla 42	Promedio de la oxidación de gel de sábila a diferentes concentraciones de ácido ascórbico	83
Tabla 43	Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de sábila para la sustitución parcial de agar	84
Tabla 44	Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de tuna para la sustitución parcial de agar	84
Tabla 45	Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de sábila para la sustitución total de agar	84
Tabla 46	Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de tuna para la sustitución total de agar	85
Tabla 47	Descripción de los tratamientos empleados para la micropropagación <i>in vitro</i> de tres variedades de <i>Solanum tuberosum</i> "papa" en medios con sustitución parcial y total de agar	85

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1	Estructura y microestructura de la hoja de <i>Aloe vera</i>	13
Figura 2	Oxidación del gel de <i>Aloe vera</i> "sábila" a diferentes concentraciones de Ácido ascórbico	34
Figura 3	Gelificación de <i>Aloe vera</i> "sábila" para la sustitución parcial de Agar	35
Figura 4	Gelificación de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" para la sustitución parcial de Agar	36
Figura 5	Gelificación de <i>Aloe vera</i> "sábila" a diferentes concentraciones para la sustitución total de Agar	37
Figura 6	Gelificación de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" a diferentes concentraciones para la sustitución total de Agar	38
Figura 7	Metodología del proceso de extracción de gel <i>Aloe vera</i> "sábila"	86
Figura 8	Metodología del proceso de extracción de gel de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna"	87
Figura 9	Procedimiento de la extracción de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila"	88
Figura 10	Procedimiento de la extracción de gel de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna"	89
Figura 11	Gel líquido y seco de <i>Aloe vera</i> "sábila" y <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna"	90
Figura 12	Determinación del pH y peso seco de los geles de <i>Aloe vera</i> "sábila"	95
Figura 13	Evaluación de la oxidación de gel líquido de <i>Aloe vera</i> "sábila" a diferentes concentraciones de Ácido ascórbico	91
Figura 14	Evaluación de la oxidación de gel en polvo de <i>Aloe vera</i> "sábila" a diferentes concentraciones de Ácido ascórbico	92
Figura 15	Cuadro de colores para determinación del grado de oxidación de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila"	92
Figura 16	Proceso de preparación de medios de cultivo	93
Figura 17	Micropropagación y crecimiento <i>in vitro</i> de explantes de papa	93
Figura 18	Crecimiento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Solanum tuberosum</i> "papa" en medio de cultivo para la sustitución total de agar con	94

	gel de <i>Aloe vera</i>	
Figura 19	Crecimiento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Solanum tuberosum</i> “papa” en medio de cultivo para la sustitución parcial de agar con gel de <i>Aloe vera</i>	94
Figura 20	Plántulas de <i>Solanum tuberosum</i> “papa” después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución parcial de agar con gel de <i>Aloe vera</i>	95
Figura 21	Plántulas de <i>Solanum tuberosum</i> “papa” después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución total de agar con gel de <i>Aloe vera</i>	95

ÍNDICE DE ANEXOS

		PÁGINAS
Anexo1	Tabla 10. Composición de los stocks en la preparación del medio de cultivo Murashige y Skoog	63
Anexo 2	Tabla Nº 11. Cantidad de Stoks y preparación de 1 litro de medio Murashige y Skoog	64
Anexo 3	Análisis estadístico del ensayo para la etapa de micropropagación	65
Anexo 4	Tabla 42. Promedio de la oxidación de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila" a diferentes concentraciones de ácido ascórbico	83
Anexo 5	Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila" y <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" para la sustitución parcial y total de agar	84
Anexo 6	Tabla 47. Descripción de los tratamientos empleados para la micropropagación <i>in vitro</i> de tres variedades de <i>Solanum tuberosum</i> "papa" en medios con sustitución parcial y total de agar	85
Anexo 7	Metodología del proceso de extracción de gel <i>Aloe vera</i> "Sábila"y <i>opuntia ficus indica</i> "tuna"	86
Anexo 8	Procedimiento de la extracción de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila"y <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna"	88
Anexo 9	Evaluación de las características de gel líquido y seco de <i>Aloe vera</i> "sábila"y <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna"	90
Anexo 10	Figura 12. Determinación del pH y peso seco de gel de <i>Aloe vera</i> "sábila"	91

Anexo 11	Figura 13. Evaluación de la oxidación de gel líquido de <i>Aloe vera</i> “sábila” a diferentes concentraciones de ácido ascórbico	91
Anexo 12	Figura 14. Evaluación de la oxidación de gel en polvo de <i>Aloe vera</i> “sábila” a diferentes concentraciones de ácido ascórbico	92
Anexo 13	Figura 15. Cuadro de colores para determinación del grado de oxidación de gel de <i>Aloe vera</i> “sábila”	92
Anexo 14	Figura 16. Proceso de preparación de medios de cultivo	93
Anexo 15	Figura 17. Micropropagación y crecimiento <i>in vitro</i> de explantes de papa	93
Anexo 16	Crecimiento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Solanum tuberosum</i> “papa” en medio de cultivo para la sustitución total y parcial de agar con gel de <i>Aloe vera</i> “sábila”	94
Anexo 17	Plántulas de <i>Solanum tuberosum</i> “papa” después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución parcial y total de agar con gel de <i>Aloe vera</i> “sábila”	95

Título: Evaluación de los geles de *Opuntia ficus indica* “tuna” y *Aloe vera* “sábila” como soporte sólido para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* “papa”. Ayacucho 2011.

Autora: Bach. Zilda Chipana Rezza

Asesora: Mg. Paula García Godos Alcázar

RESUMEN

La investigación se realizó con el objetivo de evaluar la eficiencia de los geles de *Opuntia ficus indica* “tuna” y *Aloe vera* “sábila” como soportes sólidos para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* “papa”. El estudio se ejecutó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Para la extracción de los geles se utilizaron hojas maduras de sábila y cladodios de tuna procedentes del distrito de San Juan Bautista, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La caracterización de los geles se desarrolló mediante la evaluación de atributos sensoriales como color y aspecto; y la evaluación de la característica química se realizó con la determinación del pH. Para inhibir la oxidación de gel de sábila se evaluó diferentes concentraciones de ácido ascórbico; 10, 25, 50 y 100 mg/L de gel y la inhibición de la oxidación de gel de tuna se realizó con el escaldado de cladodios a 80 °C durante 5 minutos, finalmente se determinó el rendimiento de extracción. Con el gel en polvo obtenido de tuna y sábila se desarrolló la prueba de gelificación, evaluándose diferentes concentraciones de los mismos y así determinar las concentraciones óptimas para la sustitución parcial y total de agar, las concentraciones evaluadas para la sustitución parcial de agar con gel de sábila fueron 50, 100, 150 y 200 g/L a los cuales se les añadió 3 g/L de agar respectivamente y para la sustitución total se evaluaron las concentraciones de 100, 130, 160 y 190 g/L. En cuanto a la tuna, la evaluación para la sustitución parcial se realizó a 100, 200, 300 y 400 g/L y para la sustitución total se probaron las concentraciones de 200, 400, 600 y 800 g/L. En la micropropagación de *Solanum tuberosum* “papa” de las variedades Canchan, Roja ayacuchana y Yungay se utilizó el medio Murashige y Skoog (1962). Los resultados revelan que la adición de 100 mg/L de ácido ascórbico al gel de sábila disminuye considerablemente la oxidación, en cuanto al rendimiento de extracción de gel seco, en tuna se obtuvo 0,39 g de 100g de cladodio y en sábila se obtuvo 2,74 g de 100g de gel fresco; con la prueba de gelificación se determinó que la concentración óptima para la sustitución parcial de agar con gel de sábila es 100 g/L y para la sustitución total es 160 g/L, mientras que para la sustitución parcial de tuna, la concentración óptima es 400 g/L y para la sustitución total a 800 g/L sólo presentó una gelificación media. Los resultados de la evaluación de la micropropagación en los tratamientos con sustitución parcial y total de agar con gel de sábila demostraron que no son significativamente iguales al medio control, ya que este último mostró ser superior en todos los índices de desarrollo vegetativo evaluados. Se concluye que el gel de sábila como soporte sólido permite el crecimiento *in vitro* de papa, mientras que los tratamientos evaluados para la sustitución parcial de agar con gel de tuna no permitió el crecimiento de los explantes.

Palabras clave: gel, oxidación, soportes sólidos, explantes.

I. INTRODUCCIÓN

El establecimiento de un sistema de cultivo de tejidos vegetales conlleva elaborar un medio de cultivo óptimo que se ajuste a los requerimientos nutricionales de la especie vegetal y su efectividad depende tanto de los ingredientes básicos que lo componen como del agente gelificante.¹

Uno de los problemas fundamentales de los procesos de multiplicación *in vitro* es el aspecto económico, lo que dificulta la adquisición de reactivos químicos utilizados en la elaboración de los medios de cultivo; junto a éstos se suma el desconocimiento de diferentes sustancias orgánicas que de alguna forma pudiesen suplementar o beneficiar los medios de cultivo.²

De los componentes de los medios de cultivo que más inciden en su costo está el agente gelificante. El agar ha permanecido como uno de los gelificantes más frecuentemente utilizados, asumiéndose su inocuidad sobre los tejidos. Sin embargo, algunas dudas se han generado sobre su inocuidad, por lo que algunas marcas comerciales han tenido que garantizar que han sido probadas para su uso en medios de cultivos para plantas y con ello se ha elevado el costo de los mismos.³

El agar es un polisacárido con una elevada masa molecular que tiene capacidad para gelificar los medios de cultivo *in vitro*, por ello es utilizado ampliamente con este propósito en la obtención del soporte sólido en dichos medios.⁴

Una gran diversidad de otras sustancias han sido utilizadas como agentes solidificantes, entre las que se incluyen la Agarosa, el Alginato, el Isubgol, el Carrageenan, el Gelrite y el Phytigel, los almidones de diferentes especies de plantas, la goma "katira" proveniente de la corteza de *Cochlospermum religiosum* y la goma del "xanthano" proveniente de la bacteria *Xanthomonas campestris*.³

La tendencia actual en la propagación *in vitro* de plantas es el empleo de medios de cultivo cada vez más simples y económicamente eficientes, capaces de poder aplicarse en la práctica y en un sistema productivo. Por ello a través de esta investigación se pretendió buscar otras alternativas al uso del agar; tales como el uso de geles de *Aloe vera* "sábila" y *Opuntia ficus indica* "tuna" como agentes gelificantes para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa", en la investigación se tomó en cuenta la obtención de un protocolo de extracción de geles, inhibición de la oxidación de geles, determinación del rendimiento y determinación de las concentraciones óptimas de geles para la elaboración de medio de cultivo. Así mismo se tomó en cuenta la evaluación de los índices de desarrollo vegetativo de tres variedades de *Solanum tuberosum* "papa" en medios con sustitución parcial y total de agar.

El objetivo general de la presente investigación fue: Evaluar la eficiencia de los geles de *Opuntia ficus indica* "tuna" y *Aloe vera* "sábila", como soportes sólidos para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa", siendo los objetivos específicos los siguientes:

1. Estandarizar un protocolo para la extracción de geles de *Opuntia ficus indica* "tuna" y *Aloe vera* "sábila".
2. Determinar las concentraciones óptimas de geles para la elaboración de medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa".
3. Evaluar el desarrollo *in vitro* de explantes de *Solanum tuberosum* "papa".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

La necesidad de reducir los costos en la preparación de los medios de cultivo para propagación *in vitro* ha llevado a los científicos a experimentar con nuevas sustancias que pueden ser usadas como agentes gelificantes.⁵

Peña⁶ menciona como insumos alternativos para la elaboración de los medios de cultivo a productos de uso hidropónico y agronómico como: nitrato de amonio, fosfato monopotásico, sulfato de magnesio, nitrato de potasio, cloruro de calcio, "fetrilon combi", complejo B, azúcar de mesa y como gelificante maicena. Y que estos insumos fueron utilizados en una investigación en la que se determinó que no hay diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de las plántulas de *Ullucus tuberosus* "olluco", *Oxalis tuberosa* "oca", *Solanum tuberosum* "papa" y *Uncaria tomentosa* "uña de gato".

Rodríguez y Hechevarría² señalan que el gel de *Aloe vera* tiene eficacia en la sustitución de reguladores sintéticos en medios de cultivos para el enraizamiento "*in vitro*" de plantas medicinales y frutales, en los resultados expuestos se percibe la existencia de efectos estimuladores del crecimiento en algunos de los extractos utilizados correspondiendo al extracto de sábila el mejor

comportamiento con relación a la formación de raíces lo que demuestra la posible presencia de actividad auxínica en el mismo.

Jó *et al*⁷, mencionan que se encontraron respuestas fisiológicas en la fase de enraizamiento en la micropropagación del plátano FIAH 18 en la Biofábrica de Pinar del Río, utilizando diferentes concentraciones de Murashige Skoog adicionando 20 y 40 ml/L del extracto de *Aloe vera*.

Rodríguez y Hechevarría², reportaron el estudio realizado en el Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), donde obtuvieron resultados demostrando la posibilidad de la sustitución total o parcial del agar empleado tradicionalmente, por gel de *Aloe vera* y/o harina de sagú.

Abraján⁸, mencionan que el mucílago de tuna constituye un hidrocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica, además de que tiene una gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante está siendo actualmente estudiado, con resultados interesantes y por lo ello podría competir con gomas de gran uso y otros agentes espesantes.

Rodríguez *et al*⁹, mencionan que el mucílago de tuna tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua, así como de modificar propiedades como viscosidad, elasticidad, textura, retención de agua.

2.2. *Opuntia ficus indica* “tuna”

La tuna (*Opuntia ficus indica*) pertenece a la familia Cactaceae, siendo las cactáceas especies endémicas del continente americano que se desarrollan principalmente en las regiones áridas y semiáridas.¹⁰

2.3.1 Origen y distribución geográfica

El centro primitivo de diferenciación de las cactáceas fue en el Golfo de México y el Caribe, desde donde emigraron para constituir las dos zonas geográficas actuales: América del Norte y América del Sur.¹⁰

Las *Opuntias* se han adaptado perfectamente a zonas áridas caracterizadas por condiciones secas, lluvias erráticas y suelos pobres expuestos a la erosión. Algunas especies son inclusive consideradas como plantas naturalizadas en países como Sudáfrica y Australia, donde las condiciones ambientales son particularmente favorables.¹¹

2.3.2 Clasificación taxonómica

La taxonomía de las tunas es sumamente compleja debido a múltiples razones, entre las que destaca el hecho de que los fenotipos presentan gran variabilidad según las condiciones ambientales. Además, es frecuente encontrar casos de poliploidía, ya que se reproducen en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos, lo que complica más su clasificación.¹²

En base a la clasificación taxonómica de Cronquist¹³ la tuna se clasifica en:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Caryophyllidae
Orden	: Caryophyllales
Familia	: Cactaceae
Género	: <i>Opuntia</i>
Especie	: <i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.
Nombre vulgar	: "tuna"

2.3.3 Descripción morfológica

Raíz: El sistema radical de las tunas es muy extenso y superficial, alcanzando una profundidad cercana a los 80 cm, pero se extiende horizontalmente por varios metros. Es un sistema densamente ramificado, rico en raíces finas absorbentes y superficiales.¹⁴

Tallo: La tuna presenta numerosos tallos modificados denominados cladodios (conocidos vulgarmente como “paletas” o “pencas”). Los cladodios tienen forma ovoide, elíptica u oblonga, similar a una raqueta de tenis; alcanzan una longitud de 33-60 cm y 18-25 cm de ancho; son aplanados, con un grosor de 1.8-2.3 cm; color verde pálido a oscuro, con o sin espinas dependiendo de la variedad.

Los cladodios están unidos unos a otros, formando numerosas ramificaciones que pueden llegar a alcanzar una altura de 3 a 5 m. Además, se posicionan de tal forma de aprovechar al máximo la luminosidad, por lo que los cladodios que crecen en invierno tienen una orientación diferente de los que crecen durante el verano. Sobre ambas caras del cladodio hay yemas, llamadas “aréolas”, que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios, flores y raíces dependiendo de las condiciones ambientales. Las aréolas presentan en su cavidad espinas de dos tipos: unas pequeñas, agrupadas en gran número (conocidas como “gloquidios”), y otras grandes que son hojas modificadas. La epidermis de la tuna está cubierta de una gruesa cutícula que la protege de una amplia gama de insectos y patógenos y evita la deshidratación provocada por las altas temperaturas. Además, la cutícula es de color blanquecino, lo que le permite reflejar gran parte de la radiación, evitando el calentamiento excesivo del vegetal. Es así como puede tolerar temperaturas de hasta 60°C. La cutícula está interrumpida por la presencia de estomas, los que permanecen cerrados durante el día para evitar la deshidratación. Los tallos se lignifican con el tiempo y

pueden llegar a transformarse en verdaderos tallos leñosos, agrietados, de color ocre blanquizco a grisáceo.¹⁵

Flores: Son hermafroditas, solitarias y sésiles. Presentan una longitud de 6 a 7 cm y se desarrollan preferentemente en la parte apical del margen superior del cladodio. Las flores de la tuna presentan ovario ínfero y numerosos estambres (más cortos que los pétalos y el pistilo). Sus pétalos son de colores vivos: amarillo, anaranjado, rojo, rosa, blancas, entre otros colores, mientras que los sépalos son de color amarillo claro a rojizo o blanco. Sus flores son de antesis diurna y puede haber hasta 25 flores por cladodio. Las flores se abren a los 35-45 días desde su brotación y aparecen en los cladodios después de seis meses.¹⁶

Fruto: Es una falsa baya con ovario ínfero, uniloculado y carnoso, en que la cáscara corresponde a la envoltura del ovario y la pulpa corresponde al lóculo desarrollado. La forma y tamaño de los frutos son variables (los hay ovoides, redondos, elípticos y oblongos, con los extremos aplanados, cóncavos o convexos) aunque en promedio presentan 7-9 cm de largo, 5-6 cm de diámetro y 8-14 g de peso. La epidermis de los frutos es similar a la del cladodio, con areolas y abundantes gloquidios y espinas. La pulpa presenta semillas de 4-4.5 mm de longitud, las que se consumen junto con la pulpa. Los frutos presentan semillas abortivas, lo que aumenta la proporción de pulpa comestible. Debido a que existen preferencias en algunos mercados por frutos con pocas semillas o sin semillas, el mejoramiento genético está orientado hacia la búsqueda y multiplicación de variedades que presenten esta característica.¹⁶

2.3.4 Composición química de cladodios

Tabla 1. Composición química de cladodios de tuna de distintas edades (% materia seca / 100 g muestra).

Edad (años)	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra Cruda	Extracto no Nitrogenado
0,5	9.4	1,00	21,0	8.0	60.6
1	5.4	1,29	18,2	12.0	63.1
2	4.2	1,40	13.2	14.5	66.7
3	3.7	1,33	14.2	17.0	63.7
4	2.5	1,67	14.4	17.5	63.9

Fuente: Abraján⁸

2.3.5 Gel de la tuna

Este compuesto se presenta tanto en los cladodios como en la piel y pulpa de la fruta, aunque en muy diversas proporciones.

El mucílago es un carbohidrato complejo; entre los monómeros contenidos en la cadena se encuentran: La arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-Xilosa y ácido galacturónico. La proporción de estos monómeros en la molécula varía de acuerdo a diversos factores como: variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores⁸

Fisiológicamente, ejercen un rol importante en cuanto a la retención de agua en la planta, en la tolerancia al frío, germinación de la semilla, penetración de la raíz en el suelo, el metabolismo del calcio, etc.⁸

Fisicoquímicamente es un polímero de alto peso molecular, cuya viscosidad depende del pH y de la concentración de iones de calcio, y existe controversia respecto de sus propiedades gelantes⁸. La información existente en cuanto a

sus propiedades funcionales es reciente e indica que se trata de un polímero viscosante no gelificante.¹⁷

Tabla 2. Composición química del gel de *Opuntia ficus indica* "tuna" (g/100 g muestra).

Solvente	Humedad	Proteína	Cenizas	Nitrógeno	Calcio	Potasio
Etanol	4,9 ± 0,6	7,9 ± 1,5	36,2 ± 2,3	1,3 ± 0,2	10,9 ± 0,7	1,6 ± 0,2
isopropanol	5,5 ± 1,1	6,1 ± 0,7	39,1 ± 2,4	1,0 ± 0,1	12,7 ± 1,6	2,0 ± 0,3

Fuente: Abraján⁸

2.3.6 Extracción del gel

Las metodologías de extracción del gel señaladas en los diferentes estudios realizados son muy variadas, desde metodologías muy simples hasta otras más complicadas. El método cambia según la fuente de gel (cladodio o fruto) y la parte concreta de la que se extraerá el hidocoloide (piel, pulpa o semillas). En función de lo anterior y el grado de pureza que se desea obtener serán las modificaciones al método simple que se deban hacer.⁸

2.3.7 Usos del gel

Se emplea en la elaboración de diversos productos: shampoo, enjuagues, crema para manos y cuerpo, jabón, acondicionador, mascarilla humectante, etc.¹⁸

Usos en la industria alimentaria por su poder espesante.¹⁹

Otros usos del mucílago de tuna, es su utilización como recubrimientos comestibles, en la clarificación de aguas, su adición a la cal como adherente de la pintura o su introducción en el suelo para aumentar la infiltración de agua.²⁰

2.3. Aloe vera “sábila”

El *Aloe vera*, es una planta con alrededor de 360 especies diferentes, pertenece a la familia de las asphodeláceas o liliáceas, es una planta con virtudes curativas.²¹

2.2.1 Origen y distribución geográfica

Originaria de África oriental y meridional, esta planta, se usó en forma prominente en las civilizaciones de Mesopotamia y el Antiguo Egipto. Su uso data hacia el año 2.200 a.c., en escritos cuneiformes en la tabla de Arsubanipal, en la ciudad de Nippur, también se cita en diversos papiros y documentos egipcios hacia el año 1550 a.c. Aun cuando ya se usaba con mucha anterioridad con fines medicinales y en las técnicas de embalsamiento, aparece descrita en los primeros tratados de farmacología griega y en textos bíblicos, es citado como el acíbar (sustancia resinosa medicinal) de la flor roja del aloe de Socotora, empleada con mirra por Nicodemo, para preservar el cuerpo de Cristo.²²

2.2.2 Clasificación taxonómica

En base a la clasificación taxonómica de Cronquist¹³ la sábila se clasifica en:

Reino	: Vegetal
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Subclase	: Liliidae
Orden	: Liliales
Familia	: Liliaceae
Género	: Aloe
Especie	: <i>Aloe vera</i> L.
Nombre vulgar	: “sábila”

2.2.3 Estructura y composición química

El *Aloe vera*, es una planta de hojas alargadas, carnosas y ricas en agua, alcanza una altura de 50 a 70 cm; sus hojas crecen alrededor del tallo a nivel del suelo en forma de roseta, desde el centro hacia arriba crece el tallo que al florecer forma densos racimos de flores tubulares amarillas. Las hojas son lanceoladas y dentadas con pinchos que le sirven de protección a la planta, la estructura de las hojas (Figura 1) está formada por el exocarpio o corteza, la cual está cubierta de una cutícula delgada.

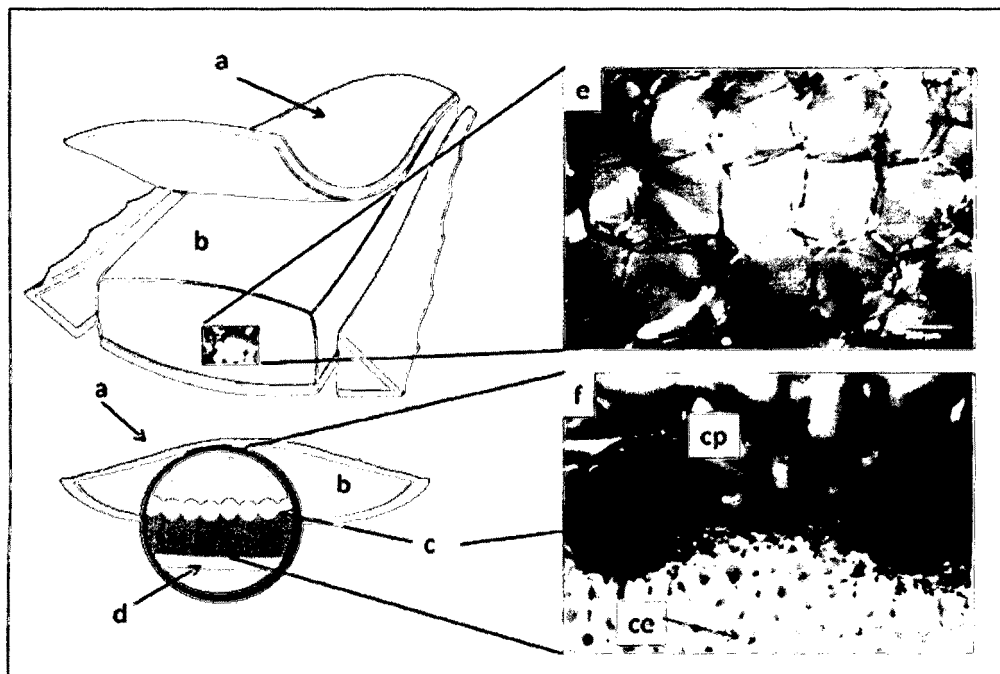
La corteza representa aproximadamente del 20 al 30% del peso de toda la planta y dicha estructura es de color verde o verde azulado, dependiendo de diversos factores tales como: el lugar, clima o nutrición de la planta. El parénquima, conocido comúnmente como pulpa o gel se localiza en la parte central de la hoja y representa del 65 al 80 % del peso total de la planta.

Como se mencionó anteriormente, entre la corteza y la pulpa, ocupando toda la superficie interna de la hoja, se encuentran los conductos de aloína (Figura 1) que son una serie de canales longitudinales de pocos milímetros de diámetro por donde circula la savia de la planta, conocida como acíbar. El acíbar se puede obtener dejando fluir el líquido de los conductos de aloína; dicha sustancia tiene usos farmacéuticos como laxante. Esta sustancia presenta un alto contenido de aloína.

Por otra parte, con respecto a la composición química se ha reportado que la planta de *Aloe vera* está constituida por una mezcla compleja de compuestos como se muestra en la tabla 3 y que más de 20 de estas sustancias poseen actividades benéficas para la salud.²¹

Químicamente el *Aloe vera* se caracteriza por la presencia de constituyentes fenólicos que son generalmente clasificados en dos principales grupos: las cromonas, como la aloensina y las antraquinonas (libres y glicosiladas) como la barbaloína, isobarbaloína y la aloemodina; estos compuestos se encuentran en la capa interna de las células epidermales.

La aloína es el principal componente del acíbar, que la planta secreta como defensa para alejar a posibles depredadores por su olor y sabor desagradable. También interviene en el proceso de control de la transpiración en condiciones de elevada insolación. La aloína es un glucósido antraquinónico que le confiere propiedades laxantes al acíbar y se utiliza en preparados farmacéuticos produciendo en ocasiones alergias a personas sensibles.



Fuente: Domínguez *et al.*³⁸

Figura 1. Estructura y microestructura de la hoja de *Aloe vera*: exocarpio (a), pulpa o tejido parenquimático (b), conductos de aloína (c) y cutícula (d). En la figura se muestran imágenes de microscopía de luz tomadas a una magnificación de 5x de las células del parénquima (e) y de un corte seccional de la hoja de *Aloe vera* (f) donde se observan con gran detalle células internas del exocarpio (ce), células del parénquima (cp) y conductos de aloína (c).

Por otra parte, el gel o pulpa es una masa gelatinosa e incolora formada por células parenquimáticas (Figura 1e), estructuradas en colénquima y células pétreas delgadas. El gel está constituido principalmente de agua, mucílagos y otros carbohidratos, ácidos y sales orgánicas, enzimas, saponinas, taninos, heteróxidos antracénicos, esteroides, triacilglicéridos, aminoácidos, ARN, trazas de alcaloides, vitaminas y diversos minerales.²¹

Tabla 3. Componentes químicos de la planta de *Aloe vera* “sábila”.

Composición	Compuestos
Antraquinonas	Ácido aloético, antranol, Ácido cinámico, barbaloína, Ácido crisofánico, emodina, aloeemodin, ester de ácido cinámico, aloína, isobarbaloína, antraceno, resistanol.
Vitaminas	Ácido fólico, vitamina B1, colina, vitamina B2, vitamina C, vitamina B3, vitamina E, vitamina B6, beta caroteno.
Minerales	Calcio, magnesio, potasio, zinc, sodio, cobre, hierro, manganeso, fósforo, cromo.
Carbohidratos	Celulosa, galactosa, glucosa, xilosa, manosa, arabinosa, aldopentosa, glucomanosa, fructuosa, acemanano, sustancias pépticas, L-ramnosa.
Enzimas	Amilasa, ciclooxidasa, carboxipeptidasa, lipasa, bradikinasa, catalasa, oxidasa, fosfatasa alcalina, ciclooxigenasa, superóxido dismutasa.
Lípidos y compuestos orgánicos	Esteroides (campesterol, colesterol, β -sitoesterol), ácido salicílico, sorbato de potasio, triglicéridos, lignina, ácido úrico, saponinas, giberelina, triterpenos.
Aminoácidos	Alanina, ácido aspártico, arginina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, tirosina, treonina, valina.

Fuente: Dominguez *et al.*²¹

2.2.4 Estabilización del gel de *Aloe vera*

Cuando el gel de *Aloe vera* se expone al aire, éste se oxida rápidamente y se descompone, perdiendo gran parte de su actividad biológica. Se han descrito diferentes técnicas de procesamiento del gel con respecto a su estabilización y esterilización, es decir, el procesamiento en frío o el tratamiento térmico. Sin embargo, el principio fundamental de estas técnicas de procesamiento sigue siendo aun prácticamente el mismo. Independientemente de la calidad de la planta por sí misma, los mejores resultados se obtienen cuando las hojas se procesan inmediatamente después de la cosecha, esto es debido a que el gel sufre una descomposición provocada por reacciones enzimáticas, así como el crecimiento de bacterias, debido a la presencia de oxígeno, elevada actividad de agua y alto contenido de azúcares.

La estabilización puede alcanzarse por la adición de conservadores y otros aditivos. Asimismo, se ha investigado el uso de benzoato de sodio, sorbato de potasio, ácido cítrico y vitamina E en forma sinérgica y se ha demostrado que el uso de estas sustancias en conjunto mantienen la bioactividad de la sábila de manera eficaz.²¹

2.2.5 Usos del gel de *Aloe vera*

El gel de *Aloe vera* se emplea en terapéutica; para el tratamiento de heridas, quemaduras, irritaciones de la piel, etc., debido a su acción cicatrizante y antiinflamatoria, y a sus propiedades hidratantes y emolientes. Constituye un ingrediente habitual de muchos productos de cosmética, también posee actividad inmunomoduladora y antiviral, debido principalmente al acemanano.²³

Se ha reportado el uso de *Aloe vera* en la cura de úlceras gástricas gracias a su efecto antiséptico.²¹

También se ha encontrado actividad antimicótica en el *Aloe vera*, específicamente contra *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* y *Fusarium moniliforme*, puesto que las antraquinonas presentes previenen infecciones.²⁴

Las propiedades beneficiosas aportadas por el *Aloe* también han sido utilizadas para mantener la calidad de otros productos, por ejemplo como recubrimiento para proteger la calidad de frutas. En este ámbito, se destaca su poder antifúngico, obteniéndose un resultado exitoso en la mantención de uva de mesa, reportándose que la aplicación de gel de *Aloe vera* como tratamiento de precosecha inhibe el deterioro microbiológico y reduce el índice de descomposición durante la postcosecha.²⁴

2.4. *Solanum tuberosum* “papa”

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es uno de los cultivos alimenticios más importantes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. En cuanto al valor de la producción mundial que supera los 300 millones de toneladas ocupa el cuarto lugar, después del trigo (*Triticum vulgare* Wuil.), el arroz (*Oryza sativa* L.) y el maíz (*Zea mays* L.).

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

Este cultivo se propaga asexualmente mediante tubérculos o a través de semilla botánica. Por ello, es propenso a la infección acumulativa por microorganismos. Esto provoca afectaciones en los rendimientos, la calidad comercial de los tubérculos y el intercambio de germoplasma. En los programas de producción de

semilla, la aplicación de técnicas de cultivo *in vitro*, combinadas con el diagnóstico y saneamiento de los principales patógenos del cultivo, ha contribuido a incrementar su eficiencia.²⁵

2.4.1. Origen

La papa es originaria de los altos Andes en América del Sur. Su cultivo se inició en el área del Lago Titicaca cerca de la frontera actual entre Perú y Bolivia. En estos países se encuentra la mayor variabilidad genética de especies silvestres y variedades cultivadas, lo que se confirma con la existencia 42 especies de *Solanum* existentes en Bolivia.²⁵

2.4.2. Descripción botánica

Solanum tuberosum L. es una planta herbácea, anual, tuberosa, perenne en entornos seleccionados a través de sus tubérculos, caducifolia, de tallo erecto o semi-decumbente, que puede medir hasta 1.0 m de altura. La planta de papa puede llegar a producir frutos con semillas viables, pero la forma de propagación utilizada a nivel de la producción comercial es la vegetativa a través de tubérculos.²⁵

2.4.3. Clasificación Taxonómica de la “papa”

En base a la clasificación taxonómica de Cronquist¹³ la papa se clasifica en:

Reino	: Vegetal
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Asteridae
Orden	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Género	: <i>Solanum</i>
Especie	: <i>Solanum tuberosum</i> L.
Nombre vulgar	: "papa"

2.4.4. Variedades

El Perú es el país con mayor diversidad de papas en el mundo, al contar con 8 especies nativas domesticadas y más de 3,000 variedades, de las 5,000 que existen en Latinoamérica. También posee 91 de las 200 especies silvestres del continente, y que generalmente no son comestibles por su sabor amargo y alta toxicidad; sin embargo son las que han dado origen a las variedades domesticadas que hoy se consumen en el planeta.²⁶

2.5. Cultivo de tejidos vegetales *in vitro*

La técnica de cultivos de tejidos consiste básicamente en el aislamiento de células o tejidos que, convenientemente desinfectados, son colocados en el medio nutritivo específico bajo condiciones de absoluta asepsia. Mediante el manejo de los niveles hormonales en el medio de cultivo es posible inducir primero la regeneración de brotes y posteriormente de raíces hasta llegar a una planta completa.

El concepto original de cultivo de tejidos vegetales se ha extendido para abarcar tanto el cultivo aséptico de tejidos como el de células y órganos, dentro de un grupo de técnicas que se fundamentan en principios como el de la totipotencialidad de la célula vegetal propuesto por Haberlandt.

Las técnicas de cultivos asepticos han contribuido no sólo a un mejor entendimiento de los eventos de la diferenciación celular, sino a un mejor aprovechamiento de tales eventos en la explotación más eficiente de las plantas. En este último aspecto vale la pena mencionar los siguientes usos de las técnicas de cultivo *in vitro*: a) mejoramiento genético; b) obtención de plantas libres de virus y otros patógenos; c) conservación de germoplasma; d) introducción de especies y variedades e) propagación masiva de especies y f) micropropagación.²⁷

2.6. Micropropagación

La micropropagación se relaciona con la multiplicación de un genotipo específico sin que se presente segregación de caracteres genéticos. A menudo incluso se le relaciona con la propagación masal de determinadas plantas a un precio competitivo, como técnica de intensificación de la producción de material vegetal. En la actualidad la micropropagación se está aplicando con gran éxito en una gran gama de cultivos hortícolas, ornamentales, frutales y forestales, sin dejar de lado la aplicación de estas técnicas en cultivos extensivos de los que se ha seleccionado genotipos superiores de los cuales es necesario contar con gran número de plantas idénticas.²⁷

2.6.1. Los medios de cultivo

La micropropagación de especies exige el uso de medios de cultivo más o menos complejos que están compuestos por macro y micronutrientes, aminoácidos y vitaminas, fitohormonas o reguladores de crecimiento, compuestos orgánicos complejos, carbohidratos y eventualmente un gelificante.²⁷

El medio y la concentración óptima de cada uno de sus constituyentes, es variable según el objeto de la investigación y la naturaleza del "explante" utilizado. Debido a estas necesidades específicas se han desarrollado muchas formulaciones.

El medio desarrollado por Murashige y Skoog (1962)²⁸, es particularmente rico en nitrógeno y buena proporción de N-NO₃, con respecto a N-NH₄ (aprox. 2:1). Su adecuada composición ha hecho que sea un medio ampliamente usado para la micropropagación de plantas herbáceas.²⁷

2.6.2. Agentes gelificantes

El gelificante suele ser un sólido que al añadirse a un medio de cultivo se disuelve por calentamiento fuerte (cercano a los 100 °C) y hace que el medio adquiera la consistencia de gel al enfriarse a temperaturas menores. Uno de los mejores agentes gelificantes de que se dispone para realizar cultivos *in vitro* de tejidos vegetales es el agar, también conocido como agar-agar. Los gelificantes deben cumplir con una serie de requisitos: no ser asimilado por el explanto, lo que haría que al consumirse el medio retornase a su estadio líquido, no interferir en la absorción de los nutrientes del medio de cultivo y permanecer estable durante el tiempo de cultivo.²⁹

Algunos ejemplos de agentes gelificantes son los siguientes: *Gelcarin* (carragenina extraída de las algas rojas *Euchema*), que evita grandes cambios

de pH, produce un gel claro y evita la vitrificación en plantas susceptibles, la carragenina; ricas en polisacáridos sulfatados como el agar y los carragenanos que aparecen en su pared celular, los cuales le confieren su mayor importancia económica. De igual forma también encontramos al Gelrite, un heteropolisacárido producido por la bacteria *Pseudomonas elodea*, el cual produce un gel claro adecuado para la observación de los cultivos. En la búsqueda de alternativas para la sustitución del agar se han evaluado otros agentes gelificantes como la agarosa, el alginato, el almidón en los cultivos de callos embriogénicos de zanahoria (*Daucus carota*, L.), celulosa en especies de *Brassica* y más recientemente la harina obtenida de los rizomas de sagú (*Maranta arundinacea*, L.).¹

- **El agar**

Presenta propiedades tales como: estabilidad, claridad y alta resistencia al metabolismo durante el desarrollo *in vitro* de las plantas que lo convierten en el agente gelificante de elección.

Es un polisacárido natural no ramificado y de alto peso molecular (3.000 a 160.000), extraído de algas rojas, Rhodofíceas, principalmente del género *Gelidium*. Está formado por galactosidos que forman la Agarosa, y de un polisacárido sulfatado, la Agarpectina. Además, contiene muy pequeñas cantidades de cationes como impurezas (Na, K, Ca, Mg, etc.). Su composición varía ligeramente en función de la especie de que se extrae, su procedencia, época de cosecha, madurez del alga, etc. Los procesos de obtención y purificación para producir los distintos tipos de agar afectan principalmente a su contenido en impurezas.

La principal característica que hace del agar un gelificante es su total disolución en agua al ser calentado a 85-100 °C, y su gelificación alrededor de los 35 °C.

Es termoreversible, es decir, se puede volver a disolver y a gelificar repetidas veces mediante variaciones en la temperatura, y es autoclavable. Su gelificación depende del pH del medio de cultivo, siendo óptima para pH 5.4-5.7. Los medios de cultivo para tejidos vegetales suelen ajustarse a pH = 5.7 antes de añadir el agar, por lo que gelifican bien; tras la gelificación el agar absorbe una cantidad de agua de hasta 200-300 veces su peso, y forma un gel muy translúcido. La preparación de los medios de cultivo para vegetales incluye generalmente un aporte de agar del 0.8%.³⁰

- **Gelrite**

Considerado como un sustituto económico del agar que se caracteriza por la alta pureza y menores cantidades del mismo le proporcionan una dureza al medio de cultivo similar a la producida con el agar.

El Gelrite se ha convertido en el agente gelificante preferido para la preparación de medios de cultivo a causa del reducido nivel de impurezas y la menor cantidad necesaria en la obtención de geles comparado con el agar. Sin embargo su uso no consigue desplazar al agar debido problemas en la consistencia del gel, problemas de vitrificación (también conocida como hiperhidratación) y al propio desconocimiento de su existencia.³¹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del estudio

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Distrito de Ayacucho, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

3.2. Obtención y selección del material experimental

Las hojas de sábila y cladodios de tuna se obtuvieron de cultivos de jardín del distrito de San Juan Bautista, provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

Aloe vera “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna” fueron las especies utilizadas.

Para obtener el material de estudio (gel) se utilizaron hojas y cladodios frescos en estado de madurez, sin presentar síntomas de oxidación, esto con el propósito de evitar modificaciones que alteren las características del producto final.

Para la micropropagación y evaluación de los geles se utilizaron explantes de papa *in vitro* de la colección del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) Ayacucho.

3.3. Extracción y caracterización de geles de *Aloe vera* “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna”

3.3.1 Extracción del gel de *Aloe vera* “sábila”

A continuación se detallan todos los procesos llevados a cabo para la extracción:

- **Lavado:** Después de cosechada las hojas frescas de sábila se lavaron con agua potable y detergente, para eliminar los agentes contaminantes presentes en las hojas; que podrían afectar la calidad del producto terminado.
- **Desinfección:** En la desinfección se utilizó hipoclorito de sodio al 6 % (NaClO) durante 15 minutos.
- **Eliminación de espinas y troceado:** Se efectuó con la finalidad de separar las puntas y los filos espinosos de la hoja de sábila para proceder con el fileteado y la obtención de los trozos. Este proceso se realizó manualmente utilizando un cuchillo.
- **Remojado:** Las hojas se dejaron remojando en un recipiente con agua durante 24 horas para eliminar el acíbar, posteriormente se procedió al lavado para eliminar los residuos adheridos en la parte cortada.
- **Descortezado:** Consistió en separar la corteza de la hoja, se realizó de forma rápida para evitar la oxidación de la pulpa.
- **Pesado:** Se pesó 100 g de gel fresco, con el fin de establecer el rendimiento de producción de gel seco.
- **Molido:** La trituración se realizó haciendo uso de la licuadora.

- **Filtración:** Para retirar las fibras vegetales se procedió a la filtración mediante el empleo de gasa y posteriormente el gel filtrado fue transferido en un recipiente hermético hacia el refrigerador para evitar la oxidación.
- **Secado:** El gel extraído se secó en estufa a 27 °C x 24 horas.

3.3.2 Extracción del gel de *Opuntia ficus indica* “tuna“

Los procedimientos que se siguieron fueron los siguientes:

- **Selección:** Se seleccionó cladodios de tamaño uniforme y libre de cochinilla.
- **Limpieza y Lavado:** La limpieza se realizó manualmente para eliminar espinas, residuos de tierra, restos de contaminantes del cultivo, etc. El lavado se realizó con agua potable y detergente.
- **Desinfección:** Se utilizó hipoclorito de sodio al 6% por 15 minutos.
- **Pelado:** Esta operación se realizó de forma rápida para evitar la oxidación de la pulpa.
- **Pesado:** Se pesó 1 kg de cladodio sin corteza con el fin de establecer el rendimiento de producción de gel seco.
- **Troceado:** Se realizó para facilitar la extracción del gel para lo cual la pulpa fue cortada en cubitos de 2 cm aproximadamente.
- **Escaldado:** Se calentó 1500 ml de agua a 80 °C en baño maría y haciendo uso de una malla metálica se colocaron los trozos de cladodios. El escaldado se ejecutó durante 5 min.
- **Extracción:** Después del escaldado los trozos se retiraron y se colocaron en un recipiente al cual se le agregó agua destilada (relación 1:1 p/v), y posteriormente se dejó macerar por 24 horas en un refrigerador. Este procedimiento se realizó por los buenos resultados obtenidos por León *et al.*³²

- **Filtrado:** Esta operación tuvo por objetivo separar el gel de la pulpa del cladodio de tuna, una vez extraído el gel fue colocado en frasco de vidrio.
- **Secado:** El gel extraído se secó a 30 °C x 24 horas en una estufa, una vez seco se almacenó a temperatura ambiente en bolsas de polietileno.

3.4. Caracterización de la materia prima

Con el fin de conocer la materia prima (gel crudo) se evaluó algunos atributos y característica química.

3.4.1. Atributos sensoriales

- **Color:** El método de medición del color se basó en la comparación visual. Para ello se tomó un tubo de ensayo limpio y se llenó con 10 ml de la muestra y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.
- **Aspecto:** Se tomó una pequeña cantidad del gel con los dedos y se aplicó suavemente en el dorso de la mano y se observó la viscosidad de la muestra.

3.4.2. Característica química

- **pH:** Se determinó con el potenciómetro, para tener en cuenta la cantidad de iones hidrógeno presente en el producto.

3.5. Inhibición de la oxidación de geles

Para evitar la oxidación de gel de sábila se evaluó cuatro concentraciones diferentes de antioxidante ácido ascórbico (tabla 4). En caso de la tuna se realizó el escaldado de los cladodios a 80 °C durante 5 minutos por referencia de la investigación realizada por Abraján³³, en la que señala que el escaldado permite obtener un producto con características físicas más adecuadas y con un aspecto más incoloro.

Tabla 4. Concentraciones de ácido ascórbico para inhibir el gel de *Aloe vera* “sábila”.

Antioxidante	Concentraciones de ácido ascórbico por litro de gel de sábila			
Ácido ascórbico	100 mg/L	50 mg/L	25mg/L	10 mg/L

3.6. Rendimiento de la extracción de geles

El rendimiento se determinó mediante el balance de materiales al finalizar el proceso de secado. Se calculó en base a la siguiente fórmula obtenida de la fuente de Vogel *et al.*³⁴

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

3.7. Prueba de gelificación

La prueba de gelificación se realizó de forma cualitativa con la evaluación de la consistencia de los geles de tuna y sábila que le confirieron al medio de cultivo, para dicho fin cada concentración se ajustó a un pH de 5.7. La prueba consistió en la sustitución parcial de agar (tabla 5) y sustitución total de agar con geles de tuna y sábila (tabla 6).

Tabla 5. Concentraciones de geles para la sustitución parcial de agar en un litro de medio de Murashige Skoog²⁸ (1962).

Gel	Concentración de agar	Concentración de gel
Sábila	3,5 g	50 g
	3,5 g	100 g
	3,5 g	150 g
	3,5 g	200 g
Tuna	3,5 g	100 g
	3,5 g	200 g
	3,5 g	300 g
	3,5 g	400 g

Tabla 6. Concentraciones de geles para la sustitución total de agar en un litro de medio de Murashige Skoog²⁸ (1962).

Gel	Concentración de gel
Sábila	100 g
	130 g
	160 g
	190 g
Tuna	200g
	400 g
	600 g
	800 g

3.8. Elección de medio de cultivo

La preparación del medio de cultivo se realizó en base a la formulación de Murashige y Skoog (1962)²⁸ (Anexo 1).

El pH del medio de cultivo se ajustó a 5,7; para lo cual se usó hidróxido de sodio 0,1 N y ácido clorhídrico 0,1 N, para subir o bajar el pH respectivamente.

Los explantes fueron sembrados en el medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con sacarosa (20g/L), pantotenato de calcio (2mg/L), myo-inositol (100 mg/L) y con agar (7g/L) (Anexo 2).

Una vez preparado el medio de cultivo estos se esterilizaron en autoclave a 121 °C por 15 min.

3.9. Micropropagación y adaptación *in vitro* de *Solanum tuberosum* “papa“

3.9.1. Micropropagación

Para el cultivo *in vitro* se realizó 3 experimentos con 3 réplicas cada uno. Cada experimento se realizó con tres variedades de papa tales como: Canchan (1), Roja ayacuchana (2) y Yungay (3).

Se realizó 5 tratamientos y 10 repeticiones. Los tratamientos empleados correspondieron a la sustitución parcial y total del agar con los geles de sábila y tuna como soporte sólido (tabla 7).

La micropropagación consistió en realizar cortes a nivel de las yemas apicales y nudos intercalares del material vegetal (papa), obteniéndose pequeños esquejes que fueron transferidos al medio de cultivo Murashige y Skoog²⁸ (1962) con y sin gel de tuna y sábila acorde de cada uno de los tratamientos que fueron probados; el agar se tomó como control.

Tabla 7. Tratamientos empleados para la micropropagación de *Solanum tuberosum* "papa".

Control	C	0,7% (p/v) de agar
Sustitución total	SP	16% de gel de sábila
	TP	80% de gel de tuna
Sustitución parcial	SA	10% de gel de sábila + 0,35% de agar
	TA	40% de gel de tuna+ 0,35% de agar

C: Control
 SP: Sábila pura
 TP: Tuna pura
 SA: Sábila agar
 TA: Tuna agar

3.10. Condiciones de cultivo *in vitro*

Los cultivos se mantuvieron en el Banco de Germoplasma de la Especialidad de Biotecnología, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad y con lámparas de luz blanca fluorescente. Los sellos utilizados fueron bolsas de polietileno y parafilm.

3.11. Evaluaciones

3.11.1. Caracterización de la materia prima

La caracterización de la materia prima (gel crudo) se realizó mediante la evaluación simple de atributos sensoriales y características químicas, después de la extracción de los mismos.

3.11.2. Oxidación

Como parte de la evaluación del aspecto del producto final (gel seco) se evaluó la oxidación. Se consideró como oxidación media a aquellos que presentaron

menor apariencia de oscuridad, como oxidación alta a aquellos que presentaron mayor apariencia de oscuridad y sin oxidación a los que no presentaron oscuridad (Anexo 13)

3.11.3. Gelificación

La prueba de gelificación se realizó de forma cualitativa después del autoclavado de los medios de cultivo y cuando estos se encontraban a temperatura ambiente; tanto para la sustitución parcial y total. Se consideró como gelificación alta a aquellos que presentaron una alta consistencia del medio, buena gelificación a aquellos que presentaron una consistencia moderada, gelificación media son aquellos que presentaron una poca consistencia y sin gelificación son aquellos medios que no presentaron consistencia alguna.

En esta etapa de la investigación también se tomó en cuenta la apariencia que adquirieron los geles durante la preparación del medio de cultivo, esto se realizó de forma cualitativa. La evaluación se desarrolló en base a observaciones; los parámetros o puntos evaluados fueron:

- **Solubilidad:** Que tan rápido se disuelven los geles y si estos se disuelven en su totalidad o si se precipitan al fondo del recipiente.
- **Formación de grumos o conglomerados:** Se evaluó si en las mezclas se forman grumos o cualquier otro tipo de conglomerados que afecten la homogeneidad y apariencia del producto.
- **Color:** se evaluó el color que le confieren los geles en estudio al medio de cultivo.

3.11.4. Crecimiento *in vitro*

Las evaluaciones de crecimiento *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa" se realizaron a los 25 días. En etapa se evaluó la oxidación y/o necrosis del explante, contaminación del medio por microorganismos, tamaño del tallo, número de hojas, número de nudos, número de raíces y tamaño de raíces.

3.12. Análisis estadístico

Los explantes se asignaron en cada tratamiento de forma aleatoria y los diferentes tratamientos se realizaron con un diseño completamente aleatorio.

Los resultados fueron sometidos al análisis de varianza usando la prueba de Duncan para determinar interacciones significativas entre los diferentes tratamientos. Se tomó el valor promedio por tratamiento de las 30 plántulas evaluadas en cada variedad.

Los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 15.0, considerando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

IV. RESULTADOS

Tabla 8. Parámetros evaluados para la caracterización de la materia prima de *Aloe vera* “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna”. Ayacucho – 2012.

Color	Líquido transparente ligeramente amarillo Líquido transparente ligeramente verde amarillo
Aspecto	Líquido viscoso Líquido viscoso
pH	4,6 5,4

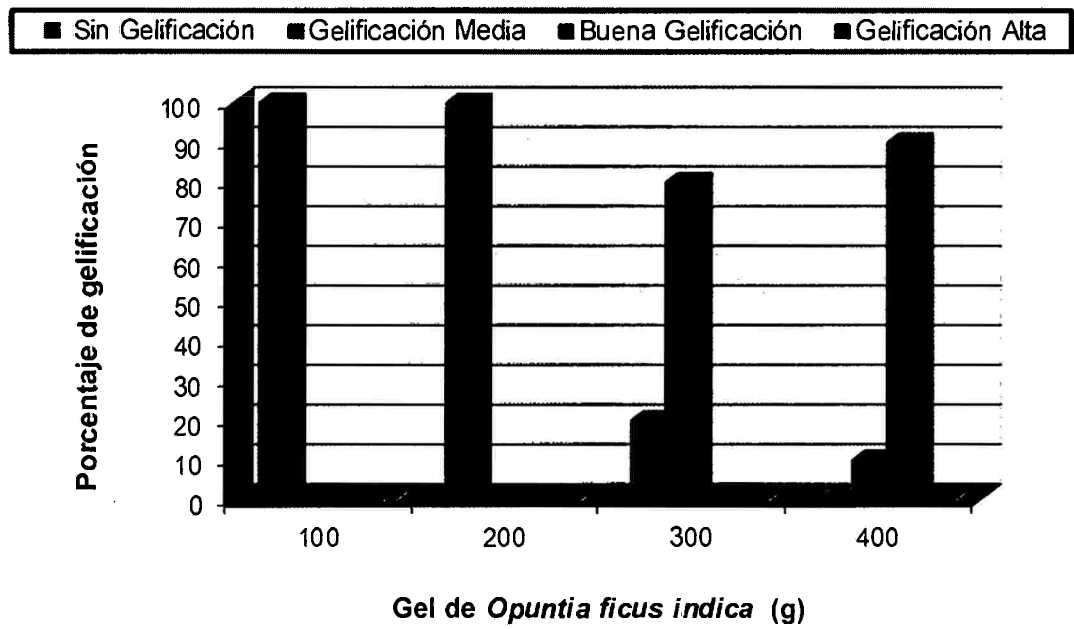


Figura 4. Gelificación de *Opuntia ficus indica* "tuna" a diferentes concentraciones para la sustitución parcial de agar

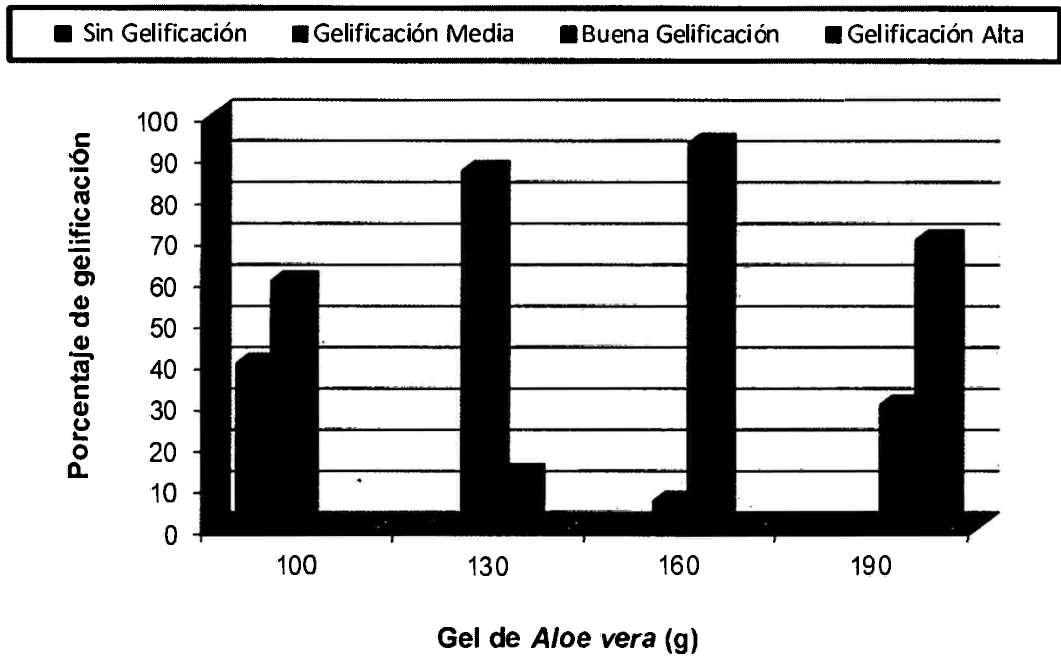


Figura 5. Gelificación de *Aloe vera* "sábila" a diferentes concentraciones para la sustitución total de agar

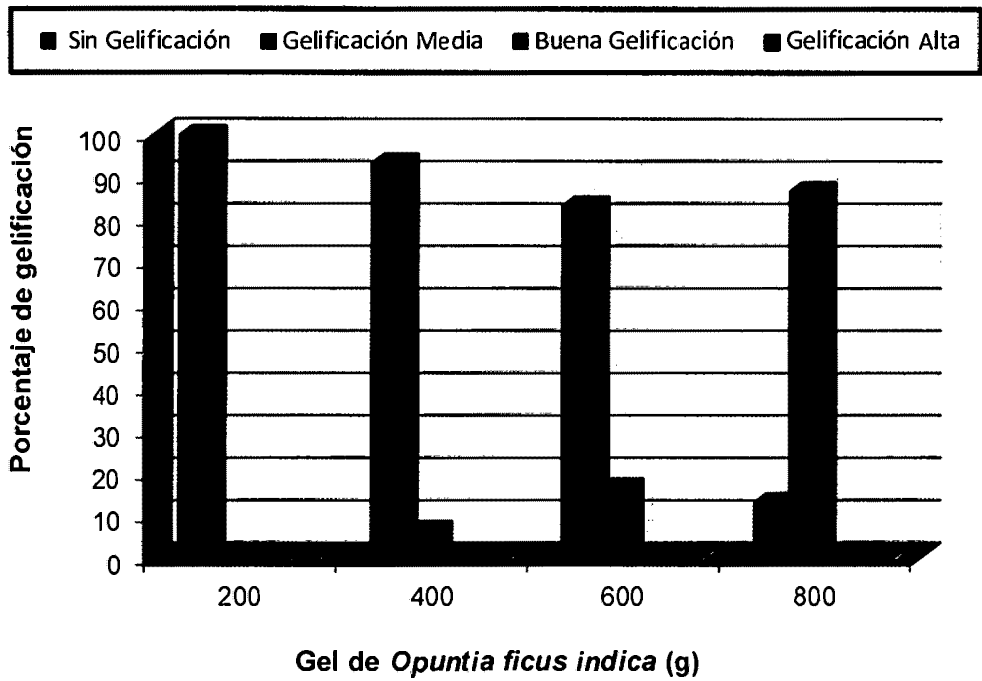


Figura 6. Gelificación de *Opuntia ficus indica* "tuna" a diferentes concentraciones para la sustitución total de agar

Tabla 9. Promedio de índices de desarrollo vegetativo de *Solanum tuberosum* "papa" en medios de cultivo con sustitución parcial y total de agar con geles de *Aloe vera* "sábila" y *Opuntia ficus indica* "tuna" después de 25 días de cultivo. Ayacucho – 2012.

Tratamientos	Promedio de índices del desarrollo vegetativo				
	Tamaño de tallo (cm)	Número de hojas	Número de nudos	Número de raíces	Tamaño de raíces (cm)
C1	4,73	7,50	6,63	4,07	5,91
C2	6,48	8,20	6,90	6,13	6,70
C3	5,32	8,03	6,77	5,23	5,65
SP1	1,77	5,80	4,93	4,13	1,33
SP2	2,44	5,67	4,90	3,37	1,57
SP3	1,68	4,87	3,90	2,10	1,31
SA1	2,34	5,27	4,50	2,67	2,31
SA2	2,65	5,20	4,50	2,20	1,59
SA3	2,37	5,67	4,63	2,50	1,90

V. DISCUSIONES

Caracterización de la materia prima

El conocimiento adecuado de las propiedades físicas del gel de *Aloe vera* es importante porque se aplica tanto en el diseño de los procesos y equipos, como en la evaluación de la calidad del producto. Una propiedad importante en las características son los atributos de color, el gel de *Aloe vera* es incoloro, sin embargo al ser sometido a diferentes tratamientos puede cambiar su aspecto.³⁵

La tabla 8 muestra que el gel de sábila tiene un color transparente ligeramente amarillo y el gel de tuna se percibió de color transparente ligeramente verde amarillo.

La medición de la viscosidad es a menudo muy importante para el control de calidad, sobre todo de productos que se supone deben tener una cierta consistencia en relación a su aspecto. La pulpa de *Aloe vera* forma un gel, en el que se ha identificado una larga cadena de monosacáridos, específicamente manosas acetiladas y glucosa, que originan un mucopolisacárido soluble denominado acemanano, componente funcional de aloe. El manano, presente en gel líquido de aloe es la base de sus propiedades viscoelásticas.³⁵

En cuanto a la viscosidad de los geles obtenidos en la investigación se observó que la sábila presenta mayor viscosidad en relación a la tuna, esto debido a que este último fue extraído con maceración haciendo uso del agua en una relación (1:1); es decir 1 kg de cladodio de tuna sin corteza en 1 L de agua.

El control del pH es otro parámetro que se tomó en cuenta, en sábila el pH fue de 4,6 y en tuna fue 5,4.

En el resultado de pH del gel de tuna se observó que la relación peso/ volumen durante la extracción no influye considerablemente en el pH del gel obtenido, debido a que prevalece el pH del agua (6,5) por el volumen utilizado pero en el tiempo de extracción (maceración por 24 horas) existe una pequeña variabilidad del pH (5,6), debido posiblemente a que ciertos iones de la tuna pasan al gel extraído.

Inhibición de la oxidación de geles

Uno de los problemas más serios y frecuentes que se presentan desde el inicio y durante el establecimiento *in vitro* de tejidos vegetales es la oxidación de algunas especies vegetales, que se manifiesta por la ocurrencia de oscurecimientos letales en los explantes y el medio de cultivo.³⁶

Al ser el gel de *Aloe vera* un producto de origen biológico el primer factor que interviene en su degradación son las enzimas que contiene, posteriormente intervienen factores externos entre los que se encuentran la luz, el oxígeno y los microorganismos³⁷. Es así que durante la extracción se observó la formación o desarrollo de un oscurecimiento en los tejidos, evidenciándose de ese modo la oxidación.

Las estrategias para evitar los procesos de oxidación que conllevan al oscurecimiento de los tejidos del explante cultivado *in vitro*, son numerosas. Una de las estrategias viene a ser el uso de antioxidantes como el ácido ascórbico; es así que Seneviratne y Wijesekara³⁸ mencionan que en *Hevea brasiliensis* (árbol de caucho), la incorporación al medio de cultivo del ácido ascórbico (AC) disminuyó considerablemente la oxidación que ocurre en los explantes. Esto contrastó con resultados previos poco efectivos, en donde, el AC sólo fue utilizado para la inmersión de los explantes durante su preparación previa a su cultivo y no evitaron el problema.

Con el propósito de disminuir o eliminar la oxidación del gel de *Aloe vera* se evaluó el uso del antioxidante ácido ascórbico a diferentes concentraciones (10, 25, 50, y 100 mg/L). La figura 1 señala que los porcentajes de geles sin oxidación con ácido ascórbico a 10 mg/L es 0%, a 25 mg/L es 10%, a 50 mg/L es 53.3% y a 100 mg/L es 93.3% de gel sin oxidación. Estos resultados indican que la oxidación fue reducida notablemente con ácido ascórbico a 100 mg/L y que los valores de oxidación alta se incrementaron en función a la disminución de la concentración del antioxidante.

El ácido ascórbico mantuvo al gel estable durante el secado y después del autoclavado.

Abraján³³, menciona que el escaldado de los cladodios de tuna previa a la extracción del gel es el tratamiento más efectivo para prevenir el pardeamiento del mismo lo que permite obtener un gel en polvo para ser usado con menos restricciones. Es así que el gel obtenido presenta una buena característica en color, con una mayor claridad y una tonalidad menos parda.

Esto es probablemente el resultado de la ausencia de una extracción cuantitativa de clorofilas (al estar la penca pelada) y la inhibición de procesos de pardeamiento enzimático asociada al proceso de escaldado. No obstante, las reacciones de pardeamiento no enzimático progresan en una cierta extensión.

Es necesario señalar que un único método para el manejo de la oxidación en este caso de los geles obtenidos no siempre es suficiente debido a la complejidad del problema, requiriéndose una solución integral que involucre un mayor número de variantes.

Rendimiento

La extracción del gel de *Opuntia ficus indica* "tuna" que correspondió a la maceración durante 24 horas de 1 kg de cladodio sin corteza en 1 litro de agua, permitió obtener 680 ml de gel. Este resultado es casi similar a lo obtenido por León *et al*³², quienes señalan que la mejor relación peso/ volumen para la extracción de gel correspondió a 1kg de pulpa de penca sin corteza en 1 litro de agua, mantenidos durante 24 horas de los cuáles se obtienen de 650 a 690 ml de gel de penca de tuna.

Los rendimientos de extracción de gel seco de *Opuntia ficus indica* "tuna" fue de 0,39 g de 100 g de cladodio de tuna sin corteza, este resultado contrasta con lo obtenido por Abraján³³, quien señala que el rendimiento de gel escaldado de tuna fue de 0.66 g de 100 g de tuna fresca. La disminución del rendimiento puede atribuirse a que durante el pelado del cladodio de la tuna se elimina también una fracción de pulpa que también contiene el gel; también puede deberse a que este se encuentra contenido dentro de células especializadas y el

simple troceado de la penca previo al escaldado, no resulta tan eficiente como la molienda para la liberación del hidrocólido.

Algunos valores encontrados en la bibliografía respecto a rendimientos de extracción del mucílago de tuna son, por ejemplo, el de Cárdenas *et al.*³⁹, que reportan un rendimiento de 0,07g de 100 g de tuna fresca. Sepúlveda *et al.*⁴⁰ obtuvieron rendimientos entre 1,3-1,6 g de 100 g de tuna fresca en función del volumen de agua, temperatura y tiempo de extracción. Y en cuanto a los rendimientos de extracción del gel de sábila tenemos 2.74 g de 100 g de sábila fresca.

Prueba de gelificación

Para la prueba de gelificación se empleó tratamientos que correspondieron a la sustitución parcial y total de agar con los geles de sábila y tuna. Se evaluó la consistencia de cada una de las concentraciones probadas, llegando finalmente a determinar las mejores concentraciones que podrían favorecer al objetivo perseguido en la investigación.

Luzel y Mejía³⁵, mencionan que las propiedades instantáneas son un parámetro importante en la evaluación de la calidad del producto final en polvo. Es así que durante la evaluación de los resultados obtenidos en cuanto a la solubilidad, se observó que el gel de tuna en polvo no se disuelve rápidamente reaccionando al primer contacto con el agua, lo que dificultó considerablemente la rápida obtención de una mezcla homogénea formándose grumos, mientras que el gel de sábila presentó una solubilidad mucho más rápida y no formó demasiados grumos, por lo que se obtuvo una mezcla homogénea con menos dificultades a comparación del anterior.

En cuanto a la evaluación del color, los medios gelificados con sábila; se presentaron de color crema manteniendo la transparencia necesaria para la observación de las posibles contaminaciones del cultivo *in vitro* y su posterior eliminación.

Sustitución parcial

Los resultados de los ensayos preliminares de la gelificación para la sustitución parcial de agar con gel de sábila (figura 3), muestra que los porcentajes de buena gelificación a 50 g/L es 6,7%, 100 g/L es 96,7%, 150 g/L es 60% y 200 g/L es 10 %. Este resultado demostró evidentemente que el uso de 100g/L de gel de sábila daría una buena consistencia al medio de cultivo; es importante también señalar que este resultado se asemeja a los obtenidos por Rodríguez y Hechevarría², que también utilizaron gel de sábila para la sustitución parcial de agar; aunque en concentraciones diferentes (0,4 % de agar más 15 % de gel de sábila).

La gelificación de tuna para la sustitución parcial de agar (figura 4), muestra que tanto a 100 y 200 g/L de gel no hay gelificación alguna; en tanto que a 300 g/L sólo se muestra una gelificación media en un 80%. A los 400 g/L se obtuvo un 90% de buena gelificación.

Sustitución total

En la figura 5, se muestra la sustitución total de agar con gel de sábila, cuyos resultados con buena gelificación a 100 g/L es 0%, 130 g/L es 13,3%, 160 g/L es 93,3% y 190 g/L es 30%. Es así que por presentar una característica deseable y un alto porcentaje de buena gelificación se eligió la concentración de 160 g/L.

Con respecto a la sustitución total de agar con gel de tuna, en ninguna de las concentraciones probadas se pudo apreciar buena gelificación tal como se señala en la figura 6; a 800 g/L se llegó a observar gelificación media al 86,7%, mientras que a las concentraciones de 400 y 600 g/L sólo se observó 6,7% y 16,7% respectivamente de gelificación media.

En cuanto a los resultados obtenidos en la evaluación de la gelificación con tuna es preciso señalar a cerca de la información existente respecto a las propiedades funcionales del mucílago de tuna; la información es reciente e indica que se trata de un polímero viscosante no gelificante⁸. Por lo que diríamos que el mucílago de tuna aumenta la viscosidad y espesamiento del medio de cultivo, pero no gelifica. Actuando así sólo como agente espesante y no como agente gelificante, tal como ocurrió con el medio de cultivo preparado con la adición de 800g/L de gel de tuna que no fue capaz de proporcionar sostén al explante.

Es preciso también señalar a cerca de la propuesta sobre la estructura del mucílago de tuna que incluye dos distintas fracciones solubles en agua; una es una pectina con propiedades gelificantes con Ca^{2+} y la otra es un mucílago sin propiedades gelificantes. Se ha reportado que en *Opuntia ficus indica*, la fracción de polisacáridos solubles en agua con propiedades espesantes, representa menos del 10 % del material soluble en agua.¹⁷

Algunos hidrocoloides necesitan condiciones especiales del medio para poder espesar y/o gelificar, es el caso por ejemplo, del alginato o de la pectina LM que necesitan iones calcio para poder formar el gel. Ruíz y Guerrero¹⁷ mencionan que el mucílago de tuna es un polímero lineal y que está compuesto por

polisacáridos emparentados con las pectinas, así mismo como se señaló anteriormente una de las fracciones que presenta la estructura del mucílago de tuna viene a ser una pectina con propiedades gelificantes con Ca^{2+} . Posiblemente esta condición es la que se debió tomar en cuenta durante la prueba de gelificación para la sustitución total de agar con gel de tuna y así obtener resultados más satisfactorios.

Por otro lado, es necesario señalar que las concentraciones de los componentes químicos que constituyen los medios de cultivo *in vitro* están estandarizados de acuerdo a las necesidades de las plantas y que la variación de estas podrían afectar el crecimiento y desarrollo del cultivo *in vitro*.

Otras condiciones especiales que se requieren para poder gelificar, en el caso del agar por ejemplo, son los factores concentración, tiempo, pH y contenido de azúcar.

El pH afecta notablemente la consistencia del gel, la disminución del pH disminuye la consistencia; haciendo que el medio nutritivo permanezca sin gelificar.

Tomando en cuenta las condiciones que se requiere para la gelificación, se ajustó el pH a 5,7 a todos los medios de cultivo preparados ya sean para sustitución parcial y total de agar con gel de sábila y tuna.

Micropropagación en tratamientos con gel de sábila

Durante la micropropagación se evaluó el crecimiento *in vitro* de las tres variedades de papa (Canchan, Roja ayacuchana y Yungay), después de 25 días de haber sido cultivadas.

La tabla 9 muestra los promedios de los índices de desarrollo vegetativo de las tres variedades de papa: Canchan (1), Roja ayacuchana (2) y Yungay (3); micropropagadas en medios con sustitución parcial (SA: sábila con agar) y total (SP: sábila pura) de agar con geles de sábila y tuna.

En cuanto al tamaño de tallo de los explantes en los diferentes tratamientos evaluados, se observa que los mayores promedios se obtuvo en el tratamiento C2 que corresponde al control de la variedad Roja ayacuchana (tabla 11) que alcanzó a medir 6,48 cm, seguido por los tratamientos C3 y C1 que corresponden a los controles de la variedad Yungay y Canchan respectivamente; la altura promedio de la variedad Yungay fue de 5,32 cm, mientras que la variedad Canchan alcanzó un promedio de 4,73 cm, no habiendo mucha diferencia entre estas dos variedades. Los tratamientos SA2 Y SP2 que corresponden a la sábila con agar de la variedad Roja ayacuchana y sábila pura también de la variedad Roja ayacuchana, alcanzaron a tener un promedio de 2,65 y 2,44 cm respectivamente; los tratamientos SA3 y SA1 que vienen a ser sábila con agar de la variedad Yungay y Canchan alcanzaron una altura de 2,37 y 2,34 cm; así mismo los tratamientos SP1 y SP3 que corresponden a sábila pura de la variedad canchan y Yungay muestran que alcanzaron un promedio de altura de 1,77 y 1,68 cm respectivamente.

Los resultados sugieren que el mayor tamaño de tallo se encontró en los tratamientos C que corresponden al control, seguidos por los tratamientos SA que vienen a ser la combinación del gel de sábila con agar, finalmente encontramos a los tratamientos (SP) que mostraron un promedio de tamaño de tallo inferior a los demás excepto a lo obtenido con el tratamiento SP2 ya que éste se encuentra dentro de los segundos mejores tratamientos (tabla 21).

Tomando en cuenta las variedades de papa (tabla 31) se observó que la variedad Roja ayacuchana es la mejor, seguido por las variedades Yungay y Canchan, no habiendo diferencia significativa entre estos dos últimos (ANOVA, Prueba de Duncan, $p > 0.05$)

En la evaluación de número de hojas encontramos que los controles presentan mayor número de hojas, seguidos por los tratamientos SA (sábila con agar) y SP (sábila pura), no habiendo diferencia significativa entre los dos últimos (tabla 13). Evaluando los controles encontramos que el tratamiento C2 (control Roja ayacuchana) presentó un promedio de 8,20; el tratamiento C3 (control Yungay) 8,03 y el tratamiento C1 (control Canchan) alcanzó un promedio de 7,50.

En los tratamientos SA (sábila con agar), encontramos que SA3 (sábila con agar Yungay) presenta un promedio de 5,67; SA1 (sábila con agar Canchan) 5,27 y SA2 (sábila con agar Roja ayacuchana) 5,20. En tanto que los tratamientos SP (sábila pura) alcanzaron un promedio de 5,80 para SP1 (sábila pura Canchan); 5,67 para SP2 (sábila pura Roja ayacuchana) y 4,87 para SP3 (sábila pura Yungay).

Los resultados para la variable número de hojas en los tipos de medio de cultivo (tabla 22) señalan que el medio control es el que tuvo mejor respuesta, seguido por los medios SP (sábila pura: sustitución total) y SA (sábila con agar: sustitución parcial), estos dos últimos no presentan diferencias significativas (ANOVA, Prueba de Duncan, $p > 0.05$). Considerando la variable número de hojas en las diferentes variedades de papa (tabla 33), no se encontraron diferencias significativas.

Se encontraron diferencias significativas en tamaño de tallo y número de hojas de los explantes en los diferentes tratamientos (ANOVA, Prueba de Duncan, $p > 0.05$), donde los tratamientos SP (sábila pura) y SA (sábila con agar) son altamente significativas respecto al control.

Las condiciones *in vitro* estimulan el desarrollo de las yemas axilares permitiendo la formación de una planta por cada yema, la eficiencia de este sistema muestran individuos con una gran estabilidad genética; al respecto la evaluación del número de nudos (tabla 14), nos muestra que los mayores promedios se encontró en los tratamientos control (C), donde el tratamiento C2 (control Roja ayacuchana) alcanzó un promedio de 6,90; C3 (control Yungay) alcanzó un promedio de 6,77; C1 (control Canchan) alcanzó un promedio de 6,63. Los segundos tratamientos que mejor respuesta tuvieron fueron los tratamientos SP (sábila pura), donde SP1 (sábila pura Canchan) y SP2 (sábila pura Roja ayacuchana) alcanzaron un promedio de 4,93 y 4,90 respectivamente, mientras que en el tratamiento SP3 (sábila pura Yungay) sólo alcanzó a obtener un promedio de 3,90.

Finalmente con respecto a la evaluación del número de nudos podemos señalar que los terceros con mejor respuesta fueron los tratamientos SA (sábila con agar), donde SA3 (sábila con agar Yungay) alcanzó un promedio de 4,36; SA2 (sábila con agar Roja ayacuchana) tuvo un promedio de 4,50 y SA1 (sábila con agar Canchan) mostró un promedio de 4,50.

Considerando la variable número de nudos en los tipos de medio de cultivo (tabla 24) encontramos al control (C) con la mejor respuesta, seguido por los tratamientos SP (sábila pura) y SA (sábila con agar), entre los dos últimos no hay diferencia significativa. Tomando en cuenta la misma variable en las diferentes

variedades (tabla 35) las tres variedades evaluadas (Roja ayacuchana, Canchan y Yungay) no presentan diferencias significativas (ANOVA, Prueba de Duncan, $p > 0.05$).

En cuanto al número de raíces, se pudo llegar a observar que el que mejor respuesta tuvo fue el tratamiento C2 (control Roja ayacuchana) con 6,13 de promedio, seguido por el tratamiento C3 (control Yungay) con 5,23; a continuación se encontraron los tratamientos SP1 (sábila pura Canchan) con 4,13 y C1 (control Canchan) con 4,07. El tratamiento SP2 (sábila pura Roja ayacuchana) tuvo un promedio de 3,37, en tanto que SA1 (sábila con agar Canchan) alcanzó un promedio de 2,67; SA3 (sábila con agar Yungay) con 2,50 de promedio; SA2 (sábila con agar Roja ayacuchana) con 2,67 y SP3 (sábila pura Yungay) con un promedio de 2,10.

Con los resultados obtenidos en la variable número de raíces en los tipos de medio (tabla 27) empleados podemos mencionar que el medio control (C) fue el que mejor respuesta tuvo, seguido por el medio SP (Sábila pura: sustitución total de agar agar), encontrando finalmente al medio SA (Sábila con agar: sustitución parcial de agar). Tomando en cuenta las variedades de papa (tabla 37) se determinó que no hay una diferencia significativa entre Roja ayacuchana (2) y Canchan (1) ya que estos fueron los que mejor respuesta tuvieron, seguido por la variedad Yungay (3).

En la tabla 9 también se muestran los promedios alcanzados en cuanto a tamaño de raíces, es así que encontramos a los controles con mejor respuesta, C2 (control Roja ayacuchana) con 6,70 cm; C1 (control Canchan) con 5,91 cm y C3 (control Yungay) con 5,65 cm en promedio; seguido por los tratamientos SA

(sábila con agar), donde SA1 (sábila con agar Canchan) tuvo 2,31 cm; SA3 (sábila con agar Yungay) tuvo 1,90 cm; SA2 (sábila con agar Roja Ayacuchana) con promedio de 1,59 cm. Finalmente encontramos a los tratamientos SP (sábila pura), donde SP2 (sábila pura Roja Ayacuchana) alcanzó un promedio de 1,57 cm; SP1 (sábila pura Canchan) con promedio de 1,33 cm y SP3 (sábila pura Yungay) con 1,31 cm en promedio.

En la evaluación de la variable tamaño de raíces en los tipos de medio de cultivo (tabla 29) encontramos como el mejor medio al control (C) seguido por el medio SA (sábila con agar: sustitución parcial de agar) y finalmente el medio SP (sábila pura: sustitución total de agar). Con respecto a la variable tamaño de raíces en las diferentes variedades (tabla 39), no hay diferencia significativa en las tres variedades (ANOVA, Prueba de Duncan, $p>0.05$)

Los tratamientos con gel de sábila, no son significativamente iguales al medio con agar (control), porque este último se mostró ser superior tanto en el tamaño del tallo, el número de hojas, número de nudos, número de raíces y tamaño de raíces; de las plántulas de las tres variedades de papa. Pero es importante resaltar que al usar gel de sábila también se consiguieron el crecimiento de las plántulas; sólo que no se ha llegado a obtener los tamaños adecuados.

Micropropagación en tratamientos con gel de tuna

La micropropagación en los tratamientos de sustitución parcial de agar con gel de tuna (40% de tuna más 0.35% de agar), mantuvieron viables a los explantes sólo hasta el día 5, a partir del cual todos los explantes se marchitaron.

Marga *et al*⁴¹; mencionan que el tipo de agente gelificante y las concentraciones a ser empleadas pueden ser tan importantes como la selección de la mezcla ideal de nutrimentos. Una inadecuada concentración puede reducir el crecimiento y proliferación de los brotes.

Así mismo Singha *et al*⁴², plantea que un incremento de la viscosidad del medio puede afectar la eficiencia de los cultivos de tejidos vegetales porque altera la velocidad de difusión de los nutrientes, y por ende, la disponibilidad de los componentes. Al respecto se sabe también que la absorción de iones inorgánicos tales como los nitratos por las plántulas obtenidas es menor cuando crecen en medios solidificados con agentes gelificantes, entre ellos, el agar que cuando lo hacen en medios líquidos⁴³.

El contenido de azúcar también tiene un efecto considerable sobre el gel de agar, pues su aumento resulta en un gel con mayor dureza pero con menor cohesión⁴⁴.

Con estas aseveraciones se podría decir que el gel de tuna al tener la habilidad de modificar las propiedades funcionales como la viscosidad, elasticidad, textura, etc. y tras la combinación realizada con agar se obtiene un producto viscoso que altera la velocidad de difusión de los nutrientes contenidos en el medio de cultivo, por lo que los explantes posiblemente no pudieron adquirir los nutrientes necesarios para un buen crecimiento y desarrollo.

Las combinaciones de espesante y gelificantes entre sí o con otros ingredientes permiten obtener una amplísima gama de agentes de textura. La selección de

los componentes de dicha mezcla es la clave para la obtención de la reología deseada⁴⁵.

En general, podríamos decir que el uso de mezclas de hidrocoloides puede ser ventajoso siempre en cuando se seleccionen los componentes adecuados de dicha mezcla. Por una parte, también sería posible la aparición de sinergismos que permiten la reducción de las dosis totales y, por otro lado, pueden elaborarse formulaciones específicas dirigidas a diferentes condiciones de uso.

Por otro lado debemos tener cuenta que los geles obtenidos en esta investigación no son un producto estándar y como consecuencia puede afectar el crecimiento y desarrollo de los tejidos.

Una vez establecido el cultivo *in vitro* pueden esperarse diferentes respuestas que van desde la muerte del explante por la utilización de un medio de cultivo inadecuado; la contaminación del material por sobre crecimiento de algún microorganismo endógeno o por un deficiente tratamiento de desinfección superficial. Uno de los principales problemas que se ven reflejados dentro del cultivo de tejidos vegetales es la contaminación por bacterias y hongos; por ello se hizo un seguimiento de los explantes micropropagados para detectar las posibles contaminaciones y sacar del cuarto de cultivo los recipientes contaminados.

Por otro lado el gel extraído de la pulpa de *Aloe vera* ha recibido un especial interés por el hecho de que genera entre 4 y 2 reducciones logarítmicas en el crecimiento del micelio de mohos tales como *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata* a concentraciones del gel a 250 ml/L⁴⁶. De acuerdo a lo señalado podemos dar cuenta de que en ninguno de los cultivos con gel de *Aloe vera* se presentó contaminación por hongos.

Esta investigación nos abre una perspectiva sobre los efectos que ejercen los geles de *Aloe vera* y *Opuntia ficus indica* como agentes gelificantes en el crecimiento y desarrollo de plántulas de *Solanum tuberosum* “papa” cultivados *in vitro*. La evaluación de cómo afecta el agente gelificante utilizado en las plantas cultivadas *in vitro*, nos permite ampliar los conocimientos sobre esta área y así mismo optimizar recursos para obtener resultados más prometedores.

VI. CONCLUSIONES

1. Se estandarizó un protocolo para la extracción de gel de *Aloe vera* "sábila" mediante la adición de 100 mg/L de ácido ascórbico que evitó la oxidación del gel. Mientras que en *Opuntia ficus indica* "tuna" la oxidación se evitó con el escaldado de los cladodios a 80 °C durante 5 minutos.
2. Se determinó que la concentración óptima de gel para sustituir parcialmente al agar con gel de sábila es 100 g/L y con gel de tuna es 400 g/L. En tanto que las concentraciones óptimas para la sustitución total de agar con gel de sábila es 160 g/L, mientras que con gel de tuna no se llegó a determinar una concentración óptima.
3. Se evaluó el desarrollo *in vitro* de explantes de *Solanum tuberosum* "papa" en tratamientos para la sustitución parcial y total del agar con gel de sábila, logrando determinar que los tratamientos control fueron los que tuvieron mejor respuesta en todos los índices de desarrollo vegetativo evaluados, a comparación de los tratamientos sábila pura y sábila con agar; no habiendo mucha diferencia significativa entre las dos últimas. Mientras que los tratamientos para la sustitución parcial del agar con gel de tuna no permitió el crecimiento *in vitro* de los explantes de papa.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios que permitan dilucidar cómo afecta el agente gelificante utilizado en las plantas cultivadas *in vitro*, ya que esto nos permitirá ampliar los conocimientos en esta área y optimizar recursos para obtener resultados más prometedores.
2. Actuar cuidadosamente con respecto a la adición de un nuevo agente gelificante no estándar un sistema de cultivo de tejidos vegetales, pues según el tipo y concentración, pueden variar considerablemente los sistemas de cultivo, entre ellos la introducción y micropropagación de las plántulas *in vitro*.
3. Debido a la importancia que implica contar con un agente gelificante que pueda sustituir al agar en los medios de cultivo *in vitro*, se propone continuar estos estudios con el objetivo de encontrar la manera de mejorar la eficacia del gel de *Aloe vera*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Capote A, Álvarez F, Fundora Z, Rodríguez Y, Pérez O, Fonseca D. Evaluación de un agente gelificante cubano, Natugel, en el cultivo *in vitro* de plántulas de tomate. *Biotecnología Aplicada* [Revista en línea]. 2002 [Consultado el 17 de febrero de 2012]; 19(1-2). Disponible en: http://elfoscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2002/19/1y2/037-40_aplicacnatugel.pdf
2. Rodríguez H, Hechevarría I. Gel de *Aloe vera* (L.) N.L. Burm. y harina de sagú como soporte sólido de medio de cultivo para plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [Revista en línea]. 2006 [Consultado el 7 de octubre de 2011]; 11(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962006000100007&script=sci_arttext
3. Romay G, Matehus J, Gerstl A, Rueda R, Santana MA. Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Revista Interciencia* [Revista en línea]. 2006 [Consultado el 8 de julio de 2011]; 31(9). Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442006000900012&script=sci_arttext
4. Pierik R. Cultivo *in vitro* de plantas superiores. 3ª ed. Madrid: Mundi Prensa; 1990.
5. Martín D, Cárdenas O, Cárdenas A. Almidón de papa, agente gelificante alternativo en medios de cultivo para propagación *in vitro* de lulo *Solanum quitoense* Lam. *Revista de Ciencias Agrícolas* [Revista en línea]. 2013 [Consultado el 10 de junio de 2013]; 30 (1): 3 - 11. Disponible en : revistas.udenar.edu.co/index.php/rFACIA/article/download/965/1187
6. Peña G. *Biología, Clonación e Ingeniería Genética; Principios básicos y aplicaciones al alcance de todos*. Lima: Gilmar Peña Rojas editor; 2002.
7. Jó M, Hernández R, Echevarría Y, Estévez M, Bustios S. Utilización del *Aloe vera* en la composición de medios de cultivo para la fase de enraizamiento de la variedad comercial de plátano FHIA 18. *Revista CITMA* [Revista en línea]. 2008 [Consultado el 4 de agosto de 2011]; 10(4). Disponible en: <http://www.ciget.pinar.cu/Revista/No.2008-4/art%EDculos/utilizacion%20de%20aloe.pdf>
8. Abraján A. Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible [Tesis Doctoral]. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de tecnología de alimentos, 2008. [Tesis en línea, consultado el 28 de agosto de 2010]. Disponible en : <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3794/tesisUPV2920.pdf?sequence=1>
9. Rodríguez S, Martínez H, Órnelas J, Garnica M. Optimización de la extracción del mecílago de nopal (*Opuntia ficus indica*). En: XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Michoacan. Disponible en : <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/III/carteles/CIII-71.pdf>

10. Flores C, Luna J, Ramírez P. El mercado mundial de la tuna. Informe final. Programa Nopal del CIESTAAM de la Universidad de Chapingo, México; 1995.
11. Reynolds S, Arias E. Opuntia como forraje. En: El Nopal (*Opuntia* spp.) como forraje. Libro FAO. México; 2003. p.169.
12. Sáenz C. Utilización agroindustrial del nopal. En: Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO. México; 2006.
13. Cronquist A. The evolution and classification of flowering plants. 2ª edition. New York Botanical Garden, Bronx. New York. EE.UU. 1988.
14. Sudzuki F, Muñoz C, Berger H. El cultivo de la tuna (*Cactus pear*). Departamento de Reproducción Agrícola. Universidad de Chile. Centro de estudios de zonas áridas: Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile; 1993.
15. Granados S, Castañeda P. El nopal. historia, fisiología, genética e importancia frutícola. 2ª ed. México, D.F: Trillas; 1996.
16. Pimienta, E. El nopal tunero. Serie Libros Tiempos de Ciencia. Universidad de Guadalajara, México; 1990. p. 246.
17. Ruíz F. Guerrero B Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucilago de nopal en fresa (*Fragaria ananassa*) almacenada en refrigeración [tesis de maestría]. Puebla: Universidad de las Américas, Departamento de Ingeniería Química, 2009. [Tesis en línea, consultado el febrero 17 de 2013] Disponible en:
http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mca/ruiz_h_f/portada.htm
18. Orosco A, Díaz S, Ramirez V, Yáñez F. Secado por aspersión de Mucilago de nopal. En: IX Congreso de Ciencia de Alimentos, Departamento de Bioingeniería, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. IPN. México, D.F; 2007. p. 277.
19. Méndez G. Principales usos y aprovechamiento del nopal en México. San Luis de Potosí. México; 2006.
20. Valdez C, Blanco M, Vázquez A, Magallanes Q. Producción y usos del nopal para verdura. Edición especial. Revista de salud pública y nutrición. [Revista en línea]. 2008 [Consultado el 24 de agosto de 2011] 14: 1,6-8. Disponible en:
<http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2008/ee-14-2008/index.html>
21. Domínguez R, Arzate I, Chanona J, Welti J, Alvarado S, Calderón G, Garibay V, Gutiérrez G. El gel de *aloe vera*: Estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. Revista Mexicana de ingeniería química [Revista en línea]. 2012 [Consultado 11 de julio 2011] 11(1) [Pág. 2.3-43]. Disponible en: rmiq.org/new%20page/Pdfs/Vol.%2011,%20No.%201/3.pdf
22. Sánchez J. La sábila una planta milenaria de la salud. Revista científica [Revista en línea]. 2006 [Consultado el 24 de agosto 2011] Disponible en: <http://www.infoasercia.gob.mx/claridades/revistas/106/ca106.pdf#page=22>
23. Vila R, Guinea M. Gel de Aloe. Revista de Fitoterapia [Revista en línea] 2001 [Consultado el 15 julio de 2011] 1 (4): 245-256. Disponible en:
http://www.fitoterapienet/revista/pdf/RDF1_4_ALOE.pdf.
24. Sanzana S. Viabilidad del desarrollo de alimentos funcionales frescos por incorporación de aloe vera a la matriz estructural de endibia (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*), brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) y zanahoria (*Daucus carota* L.) mediante la técnica de impregnación a vacío. [Tesis Doctoral]. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos

- para el Desarrollo, 2010 [Tesis en línea, consultado el 16 de marzo de 2012]. Disponible en:
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/8545/tesisUPV3367.pdf>
25. Igarza J, Agramonte D, Alvarado Y, de Fera. Empleo de métodos Biotecnológicos en la Producción de semillas de papa. *Biotecnología Vegetal* [Revista en línea]. 2012 [Consultado el 3 de octubre de 2011]; 12(1):3-Disponible en:
http://revista.ibp.co.cu/component/docman/doc_view/1508-bv0397-12-12-103-24.html
 26. Peruecologico.com.pe [Internet]. Perú, Perú Ecológico; 2008 [actualizado enero 2009; consultado 15 de noviembre 2012]. Disponible en:
http://www.peruecologico.com.pe/flo_papa_1.htm
 27. Dubos R. Establecimiento *in vitro* de diferentes especies y genotipos del género *Rhododendron* mediante el uso de técnicas de micropropagación. [Tesis de Grado] Chile: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, 2006 [Tesis en línea, consultado el 17 de noviembre de 2013]. Disponible en:
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fad817e/doc/fad817e.pdf>
 28. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 1962; 15: 473-497.
 29. Loaiza C. Análisis fisiológico del efecto de tres marcas de agar y Gelrite en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto (Cactaceae). [Tesis de Grado] Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, 2008 [Tesis en línea, consultado 14 de enero 2013]. Disponible en:
<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/231104/298/3/Analisis%20fisiologico%20del%20efecto%20de%20tres%20marcas%20de%20agar.pdf>
 30. Veitia N, Collado R, García L, Bermúdez I, Torres D, Romero C. Influencia del agente gelificante en la regeneración de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. a partir de callos organogénicos. [Página principal de internet]. Cuba: Instituto de Biotecnología de las Plantas; c2012 [2012, jun 2; consultado 11 de setiembre de 2012]. [aprox. 3 pantallas]. Disponible en:
http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:6AvQ2uD8OkIj:revista.ibp.co.cu/component/docman/doc_view/1554-2-bv020312html.html+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe
 31. Sanz I. utilización de agentes gelificantes como sustrato en semilleros hortícolas. [Página principal de internet] Navarra : Universidad Pública de Navarra; c2010 c2012 [consultado 14 de setiembre 2012]. [aprox. 80 pantallas]. Disponible en:
<http://academicae.unavarr.a.es/bitstream/handle/2454/2025/577180.pdf?sequence=1>
 32. León C, Luzuriaga C, Tene T, Vicente A. Determinación de parámetros óptimos para la extracción y conservación del gel de penca de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedades blanca y amarilla que se producen en el cantón calvas de la provincia de Loja. Universidad Técnica Particular de Loja. Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial San Cayetano Alto. Loja. Ecuador. 2010. Disponible en:
http://newsite.utpl.edu.ec/files/image/stories/publi_cientificas/serviciosagrop_ecuarios/PUB-CETTIA-011.pdf
 33. Abraján V. Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucíalga de nopal (*Opuntia ficus indica*) y estudio de su

- aplicación como recubrimiento comestible.[Tesis Doctoral] Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de tecnología de alimentos, 2008 [Tesis en línea, consultado 28 agosto de 2010]. Disponible en : http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/3794/tesisUPV_2920.pdf?sequence=1
34. Vogel A, Tatchell A, Furnis B, Hannaford A, Smith P. Textbook of Practical Organic Chemistry, 5th Edition. Prentice Hall. 1996.
 35. Luzel A. y Mejía T. Efecto de la deshidratación por radiación infrarroja sobre algunas características fisicoquímicas de interés comercial del *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*). [Tesis de maestría] Sabana: Universidad de la Sabana, Facultad de Ingeniería, 2011. [Tesis en línea, consultado 17 julio 2013]. Disponible en: <http://intellectum.unisabana.edu.co:8080/jspui/bitstream/10818/1249/1/Adriana%20Luzely%20Mejia%20Ter%C3%A1n.pdf>
 36. Azofeifa A. problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro* [Artículo en línea]. Agronomía mesoamericana. 2009. 20(1): 153-175. [consultado 19 de febrero de 2012]. Disponible en: www.mag.go.cr/rev_meso/v20n01_153.pdf
 37. Guardiola F, Sarmiento I. Consideraciones Sobre La Estabilización de Geles de *Aloe vera*. Colombia. 2008. Disponible en : <http://s3.amazonaws.com/lcp/madr/myfiles/consideraciones-sobre-estabilizacion.pdf>
 38. Seneviratne P, Wijesekara G. The problem of phenolic exudates in *in vitro* culture of mature Hevea brasiliensis. Journal of Plantation Crop 1996; 24: 54-62.
 39. Cárdenas A, Higuera I, Goycoolea F. Rheology and Aggregation of Cactus (*Opuntia ficus indica*) Mucilage in solution. Hermosillo, México. 1997; p.154
 40. Sepúlveda E, Sáenz C, Aliaga E, Aceituno C. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia spp.* Journal of Arid Environments. 2007; 68: 534-545.
 41. Marga F, Verbet L, Morvan H. Agar fractions could protect apple shoots cultured in liquid media against hyperhydricity. Plant Cell Tissue Organ Cult. 1997; 49: 1-5.
 42. Singha S, Townsend E, Oberly G. Mineral nutrient status of crabapple and pear shoots cultured *in vitro* on varying concentration of three commercial agars. J Amer Soc Hort Sci.1998; 110:407-11.
 43. Fave M, David A, Lamant A. Nitrate reductase activity and nitrate accumulation in *in vitro*-produced axillary shoots, plantlets and seedlings of *Pinus pinaster*. Plant Cell Rep. 1991; 5:368-71.
 44. Penna, A. Hidrocolóides. Usos em Alimentos. En: Revista Food Ingredients: Cuaderno de Tecnología de Alimentos y Bebidas. 2002; 17: 58-61.
 45. Quintáns L. Reología de productos Alimentarios. [tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Ingeniería Química ; 2008.
 46. Castillo S, Navarro D, Zapata P, Guillén F, Valero D, Serrano M, Martínez D. Antifungal efficacy of *Aloe vera in vitro* and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. Postharvest Biology and technology. 2010; 57: 183 –188.

ANEXOS

Anexo 3

Análisis estadístico del ensayo para la etapa de micropropagación

Tabla 12. Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación..

Informe

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo	
Tam. Tallo	C-Canchan	30	4,737	,8628	,7445	3,2	6,6
	C-R.A.	30	6,483	1,4965	2,2394	3,5	9,3
	C-Yungay	30	5,320	1,9959	3,9837	2,2	10,0
	SP-Canchan	30	1,773	,7515	,5648	,7	3,4
	SP-R.A.	30	2,440	,8775	,7701	,9	4,5
	SP-Yungay	30	1,677	,7181	,5156	,6	3,2
	SA-Canchan	30	2,343	1,1202	1,2550	,7	4,6
	SA-R.A.	30	2,647	,9070	,8226	,6	4,4
	SA-Yungay	30	2,370	1,0076	1,0153	,9	4,4
	Total	270	3,310	1,9954	3,9818	,6	10,0

ANOVA

Tam. Tallo* Tratamientos

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tam. Tallo	Inter-grupos	725,688	8	90,711	68,542	,000
	Intra-grupos	345,415	261	1,323		
	Total	1071,103	269			

Tabla 13. Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
SP-Yungay	30	1,677				
SP-Canchan	30	1,773	1,773			
SA-Canchan	30		2,343	2,343		
SA-Yungay	30		2,370	2,370		
SP-R.A.	30			2,440		
SA-R.A.	30			2,647		
C-Canchan	30				4,737	
C-Yungay	30				5,320	
C-R.A.	30					6,483
S.g.		,745	,058	,359	,051	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30,000.

Tabla 14. Análisis de varianza para la variable número de hojas de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación.

Informe

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo	
Nº hojas	C-Canchan	30	7,50	1,548	2,3966	5	11
	C-R.A.	30	8,20	1,955	3,8207	5	14
	C-Yungay	30	8,03	1,991	3,9644	4	14
	SP-Canchan	30	5,80	1,064	1,1310	3	8
	SP-R.A.	30	5,67	1,845	3,4023	2	9
	SP-Yungay	30	4,87	1,833	3,3609	2	8
	SA-Canchan	30	5,27	1,837	3,3747	3	10
	SA-R.A.	30	5,20	1,186	1,4069	3	7
	SA-Yungay	30	5,67	1,768	3,1264	3	9
	Total	270	6,24	2,073	4,2969	2	14

ANOVA

Nº hojas * Tratamiento

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	402,333	8	50,292	17,419	,000
Intra-grupos	753,533	261	2,887		
Total	1155,867	269			

Tabla 15. Prueba de Duncan para la variable número de hojas.

Duncan^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
SP-Yungay	30	4,87	
SA-R.A.	30	5,20	
SA-Canchan	30	5,27	
SP-R.A.	30	5,67	
SA-Yungay	30	5,67	
SP-Canchan	30	5,80	
C-Canchan	30		7,50
C-Yungay	30		8,03
C-R.A.	30		8,20
Sig.		,063	,134

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30,000.

Tabla 16. Análisis de varianza para la variable número de nudos de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación.

Informe

	Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo
Nº nudos	C-Canchan	30	6,63	1,189	1,4126	4	9
	C-R.A.	30	6,90	1,647	2,7138	4	10
	C-Yungay	30	6,77	1,382	1,9092	3	9
	SP-Canchan	30	4,93	1,112	1,2368	3	7
	SP-R.A.	30	4,90	1,807	3,2655	1	8
	SP-Yungay	30	3,90	1,768	3,1276	1	7
	SA-Canchan	30	4,50	1,889	3,5690	2	9
	SA-R.A.	30	4,50	1,009	1,0172	3	6
	SA-Yungay	30	4,63	1,752	3,0678	2	8
	Total	270	5,30	1,862	3,4658	1	10

ANOVA

Nº nudos * Tratamientos

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Nº nudos	Inter-grupos	314,030	8	39,254	16,571	,000
	Intra-grupos	618,267	261	2,369		
	Total	932,296	269			

Tabla 17. Prueba de Duncan para la variable número de nudos

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SP-Yungay	30	3,90		
SA-Canchan	30	4,50	4,50	
SA-R.A.	30	4,50	4,50	
SA-Yungay	30	4,63	4,63	
SP-R.A.	30		4,90	
SP-Canchan	30		4,93	
C-Canchan	30			6,63
C-Yungay	30			6,77
C-R.A.	30			6,90
Sg.		,093	,341	,532

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30,000.

Tabla 18. Análisis de varianza para la variable número de raíces de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación.

Informe

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo
C-Canchan	30	4,07	1,337	1,7885	2	7
C-R.A.	30	6,13	1,306	1,7057	3	8
C-Yungay	30	5,23	1,524	2,3230	2	8
SP-Canchan	30	4,13	1,306	1,7057	1	6
SP-R.A.	30	3,37	1,732	2,9989	1	7
SP-Yungay	30	2,10	,885	,7828	1	4
SA-Canchan	30	2,67	1,028	1,0575	1	4
SA-R.A.	30	2,20	,805	,6483	1	3
SA-Yungay	30	2,50	,974	,9483	1	5
Total	270	3,60	1,812	3,2818	1	8

ANOVA

Nº raíz * Tratamientos

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Nº raíz	Inter-grupos	478,000	8	59,750	38,525	,000
	Intra-grupos	404,800	261	1,551		
	Total	882,800	269			

Tabla 19. Prueba de Duncan para la variable número de raíces.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
SP-Yungay	30	2,10				
SA-R.A.	30	2,20				
SA-Yungay	30	2,50				
SA-Canchan	30	2,67				
SP-R.A.	30		3,37			
C-Canchan	30			4,07		
SP-Canchan	30			4,13		
C-Yungay	30				5,23	
C-R.A.	30					6,13
Sg.		,110	1,000	,836	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30,000.

Tabla 20. Análisis de varianza para la variable tamaño de raíces de los explantes de tres variedades de papa en diferentes tratamientos de micropropagación.

Informe

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo
Tam. Raíz C-Canchan	30	5,9100	1,35477	1,8354	3,80	9,10
C-R.A.	30	6,7000	1,78442	3,1841	2,70	9,90
C-Yungay	30	5,6467	1,45785	2,1253	3,30	9,00
SP-Canchan	30	1,3283	,54703	,2992	,55	3,00
SP-R.A.	30	1,5733	,47771	,2282	,69	2,55
SP-Yungay	30	1,3120	,38205	,1460	,55	2,31
SA-Canchan	30	2,3057	1,18094	1,3946	1,10	6,00
SA-R.A.	30	1,5900	,90719	,8230	,40	3,60
SA-Yungay	30	1,9027	,95783	,9174	,66	4,92
Total	270	3,1410	2,38316	5,6795	,40	9,90

ANOVA

Tam. Raíz * Tratamientos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1210,129	8	151,266	124,290	,000
Tam. Raíz Intra-grupos	317,647	261	1,217		
Total	1527,776	269			

Tabla 21. Prueba de Duncan para la variable tamaño de raíces.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
SP-Yungay	30	1,3120			
SP-Canchan	30	1,3283			
SP-R.A.	30	1,5733			
SA-R.A.	30	1,5900			
SA-Yungay	30	1,9027	1,9027		
SA-Canchan	30		2,3057		
C-Yungay	30			5,6467	
C-Canchan	30			5,9100	
C-R.A.	30				6,7000
S.g.		,065	,158	,356	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 30,000.

Tabla 22. Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de explantes de papa en los tipos de medio de cultivo.

Informe

Tamaño de Tallo

Medio	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Control	5,5133	90	1,67434	2,803	10,00	2,20
SP	1,9633	90	,84819	,719	4,50	,60
SA	2,4533	90	1,01330	1,027	4,60	,60
Total	3,3100	270	1,99544	3,982	10,00	,60

ANOVA

Tam. Tallo* Tipo de medio de cultivo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	666,186	2	333,093	219,640	,000
Intra-grupos	404,917	267	1,517		
Total	1071,103	269			

Tabla 23. Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo.

Duncan

Medio	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	2	3
SP	90	1,9633		
SA	90		2,4533	
Control	90			5,5133
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 24. Análisis de varianza para la variable número de hojas en los tipos de medio de cultivo.

Informe

Nro hojas

Medio	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Control	7,9111	90	1,84601	3,408	14,00	4,00
SP	5,4444	90	1,65652	2,744	9,00	2,00
SA	5,3778	90	1,61856	2,620	10,00	3,00
Total	6,2444	270	2,07290	4,297	14,00	2,00

ANOVA

Nro. hojas * Tipo de medio de cultivo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	375,200	2	187,600	64,162	,000
Intra-grupos	780,667	267	2,924		
Total	1155,867	269			

Tabla 25. Prueba de Duncan para la variable número de hojas.

Duncan		Subconjunto para alfa =,05	
Medio	N	1	2
SA	90	5,3778	
SP	90	5,4444	
Control	90		7,9111
Sig.		,794	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 26. Análisis de varianza para la variable número de nudos en los tipos de medio de cultivo.

Informe

Nro. nudos

Medio	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Control	6,7667	90	1,40665	1,979	10,00	3,00
SP	4,5778	90	1,64882	2,719	8,00	1,00
SA	4,5444	90	1,58051	2,498	9,00	2,00
Total	5,2963	270	1,86166	3,466	10,00	1,00

ANOVA

Nro_nudos * Tipo de medio de cultivo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	291,919	2	145,959	60,856	,000
Intra-grupos	640,378	267	2,398		
Total	932,296	269			

Tabla 27. Prueba de Duncan para la variable número de nudos.

Duncan			
Medio	N	Subconjunto para alfa = ,05	
		1	2
SA	90	4,5444	
SP	90	4,5778	
Control	90		6,7667
Sig.		,885	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 28. Análisis de varianza para la variable número de raíces en los tipos de medio de cultivo.

Informe

Nro raíces

Medio	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Control	5,1444	90	1,61844	2,619	8,00	2,00
SP	3,2000	90	1,58078	2,499	7,00	1,00
SA	2,4556	90	,95000	,902	5,00	1,00
Total	3,6000	270	1,81157	3,282	8,00	1,00

ANOVA

Nro. raices * Tipo de medio de cultivo

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	346,956	2	173,478	86,440	,000
Intra-grupos	535,844	267	2,007		
Total	882,800	269			

Tabla 29. Prueba de Duncan para la variable número de raices.

Duncan

Medio	N	Subconjunto para alfa = ,05		
		1	2	3
SA	90	2,4556		
SP	90		3,2000	
Control	90			5,1444
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 30. Análisis de varianza para la variable tamaño de raices en los tipos de medio de cultivo.

Informe

Tam_Raiz

Medio	N	Media	Desviación típica	Varianza	Mínimo	Máximo
C	90	6,0856	1,59081	2,5307	2,70	9,90
SP	90	1,4046	,48360	,2339	,55	3,00
SA	90	1,9328	1,05277	1,1083	,40	6,00
Total	270	3,1410	2,38316	5,6795	,40	9,90

ANOVA

Tam. Raiz * Tipos de medio de cultivo

	Sumade cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1183,090	2	591,545	458,221	,000
Intra-grupos	344,686	267	1,291		
Total	1527,776	269			

Tabla 31. Prueba de Duncan para la variable tamaño de raíces.

Medio	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
SP	90	1,4046		
SA	90		1,9328	
Control	90			6,0856
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000

Tabla 32. Análisis de varianza para la variable tamaño de tallo de explantes de papa en las diferentes variedades.

Informe

Tamaño de Tallo

Variedad	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Canchan	2,9511	90	1,58187	2,502	6,60	,70
Roja ayacuchana	3,8567	90	2,17814	4,744	9,30	,60
Yungay	3,1222	90	2,07850	4,320	10,00	,60
Total	3,3100	270	1,99544	3,982	10,00	,60

ANOVA

Tam_Tallo * Variedad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	41,662	2	20,831	5,403	,005
Intra-grupos	1029,441	267	3,856		
Total	1071,103	269			

Tabla 33. Prueba de Duncan para la variable tamaño de tallo.

Variedades	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Canchan	90	2,951	
Yungay	90	3,122	
R.A.	90		3,857
S.g.		,559	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 34. Análisis de varianza para la variable número de hojas en las diferentes variedades.

Informe

Nro hojas

Variedad	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Canchan	6,1889	90	1,77937	3,166	11,00	3,00
Roja ayacuchana	6,3556	90	2,13747	4,569	14,00	2,00
Yungay	6,1889	90	2,28770	5,234	14,00	2,00
Total	6,2444	270	2,07290	4,297	14,00	2,00

ANOVA

Nro_hojas * Variedad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,667	2	,833	,193	,825
Intra-grupos	1154,200	267	4,323		
Total	1155,867	269			

Tabla 35. Prueba de Duncan para la variable número de hojas.

Variedades	N	Subconjunto para alfa = 0,05
		1
Canchan	90	6,19
Yungay	90	6,19
R.A.	90	6,36
S.g.		,616

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 36. Análisis de varianza para la variable número de nudos en las diferentes variedades.

Informe

Nro_nudos

Variedad	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Canchan	5,3556	90	1,69806	2,883	9,00	2,00
Roja ayacuchana	5,4333	90	1,84238	3,394	10,00	1,00
Yungay	5,1000	90	2,03370	4,136	9,00	1,00
Total	5,2963	270	1,86166	3,466	10,00	1,00

ANOVA

Nro_nudos * Variedad

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5,474	2	2,737	,788	,456
Intra-grupos	926,822	267	3,471		
Total	932,296	269			

Tabla 37. Prueba de Dunnett para la variable número de nudos.

Variedades	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Yungay	90	5,10
Canchan	90	5,36
R.A.	90	5,43
S.g.		,261

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 90,000.

Tabla 38. Análisis de varianza para la variable número de raíces de explantes en las diferentes variedades.

Informe

Nro_raices

Variedad	Media	N	Desviación típica	Varianza	Máximo	Mínimo
Canchan	3,6222	90	1,39484	1,946	7,00	1,00
Roja ayacuchana	3,9000	90	2,12026	4,496	8,00	1,00
Yungay	3,2778	90	1,81150	3,282	8,00	1,00
Total	3,6000	270	1,81157	3,282	8,00	1,00

Anexo4

Tabla 42. Promedio de la oxidación de gel de *Aloe vera* "sábila" a diferentes concentraciones de ácido ascórbico.

Oxidación	Concentración de ácido ascórbico (mg/L)			
	10	25	50	100
Oxidación Alta	23	19	10	0
Oxidación Media	7	8	4	2
Sin Oxidación	0	3	16	28

Anexo 5

Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* "sábila" y *Opuntia ficus indica* "tuna" para la sustitución parcial y total de agar.

Tabla 43. Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* "sábila" para la sustitución parcial de agar.

Gelificación	Concentraciones de gel			
	50	100	150	200
Sin Gelificación	0	0	0	0
Gelificación Media	28	1	0	0
Buena Gelificación	2	29	18	3
Gelificación Alta	0	0	12	27

Tabla 44. Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de *Opuntia ficus indica* "tuna" para la sustitución parcial de agar.

Gelificación	concentraciones de gel			
	100	200	300	400
Sin Gelificación	30	30	6	0
Gelificación Media	0	0	24	3
Buena Gelificación	0	0	0	27
Gelificación Alta	0	0	0	0

Tabla 45. Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* "sábila" para la sustitución total de agar.

Gelificación	Concentraciones de gel			
	100	130	160	190
Sin Gelificación	12	0	0	0
Gelificación Media	18	26	2	0
Buena Gelificación	0	4	28	9
Gelificación Alta	0	0	0	21

Tabla 46. Promedio de la gelificación de diferentes concentraciones de gel de *Opuntia ficus indica* "tuna" para la sustitución total de agar.

Gelificación	Concentraciones de gel			
	200	400	600	800
Sin Gelificación	30	28	25	4
Gelificación Media	0	2	5	26
Buena Gelificación	0	0	0	0
Gelificación Alta	0	0	0	0

Anexo 6

Tabla 47. Descripción de los tratamientos empleados para la micropropagación *in vitro* de tres variedades de *Solanum tuberosum* "papa" en medios con sustitución parcial y total de agar con gel de *Aloe vera* "sábila".

Variedad	Tratamiento	Componente
Canchan (1)	C1 : Control Canchan	0,7% (p/v) de agar
	SA1: Sábila con agar	10% de gel de sábila + 0,35% de agar
	SP1: Sábila pura	16% de gel de sábila
Roja ayacuchana (2)	C 2 : Control R. ayacuchana	0,7% (p/v) de agar
	SA2: Sábila con agar	10% de gel de sábila + 0,35% de agar
	SP2: Sábila pura	16% de gel de sábila
Yungay (3)	C3: Control Yungay	0,7% (p/v) de agar
	SA3: Sábila con agar	10% de gel de sábila + 0,35% de agar
	SP3: Sábila pura	16% de gel de sábila

Anexo 7

Metodología del proceso de extracción de gel *Aloe vera* "sábila" y *opuntia ficus indica* "tuna".

Figura 7. Metodología del proceso de extracción de gel *Aloe vera* "sábila"

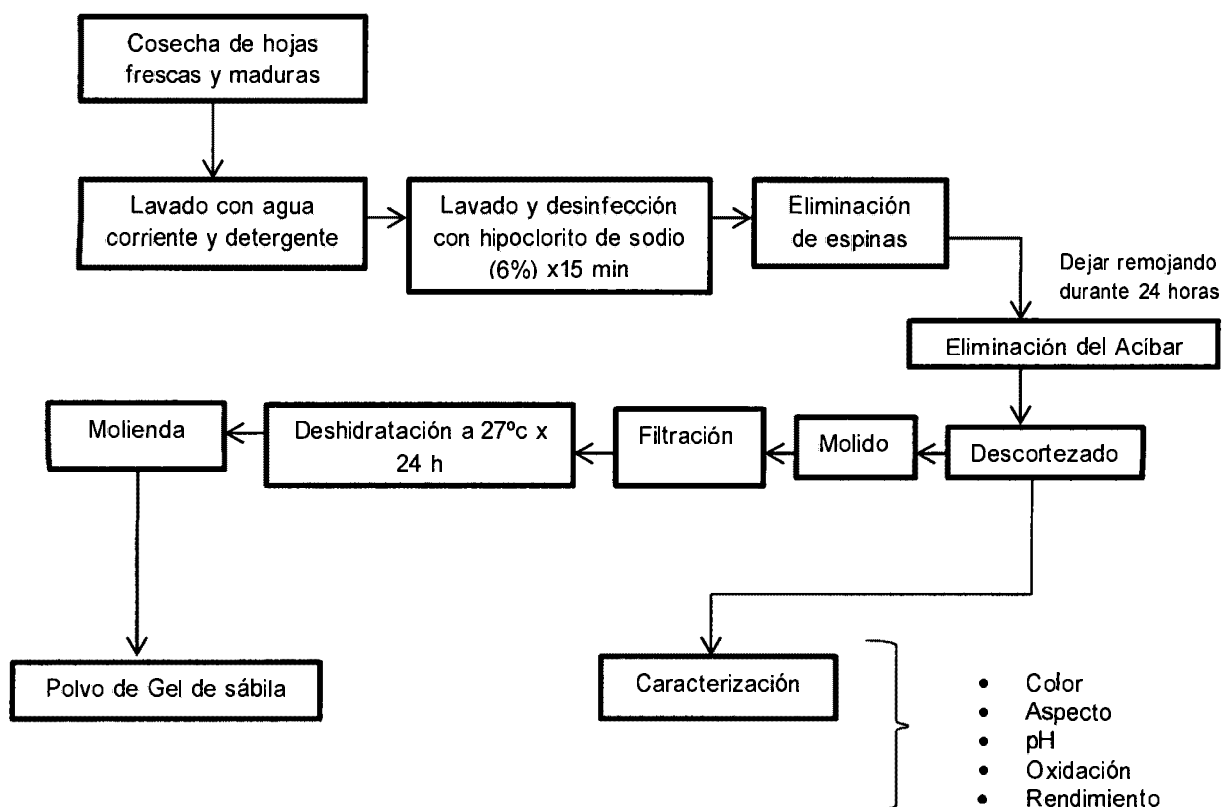
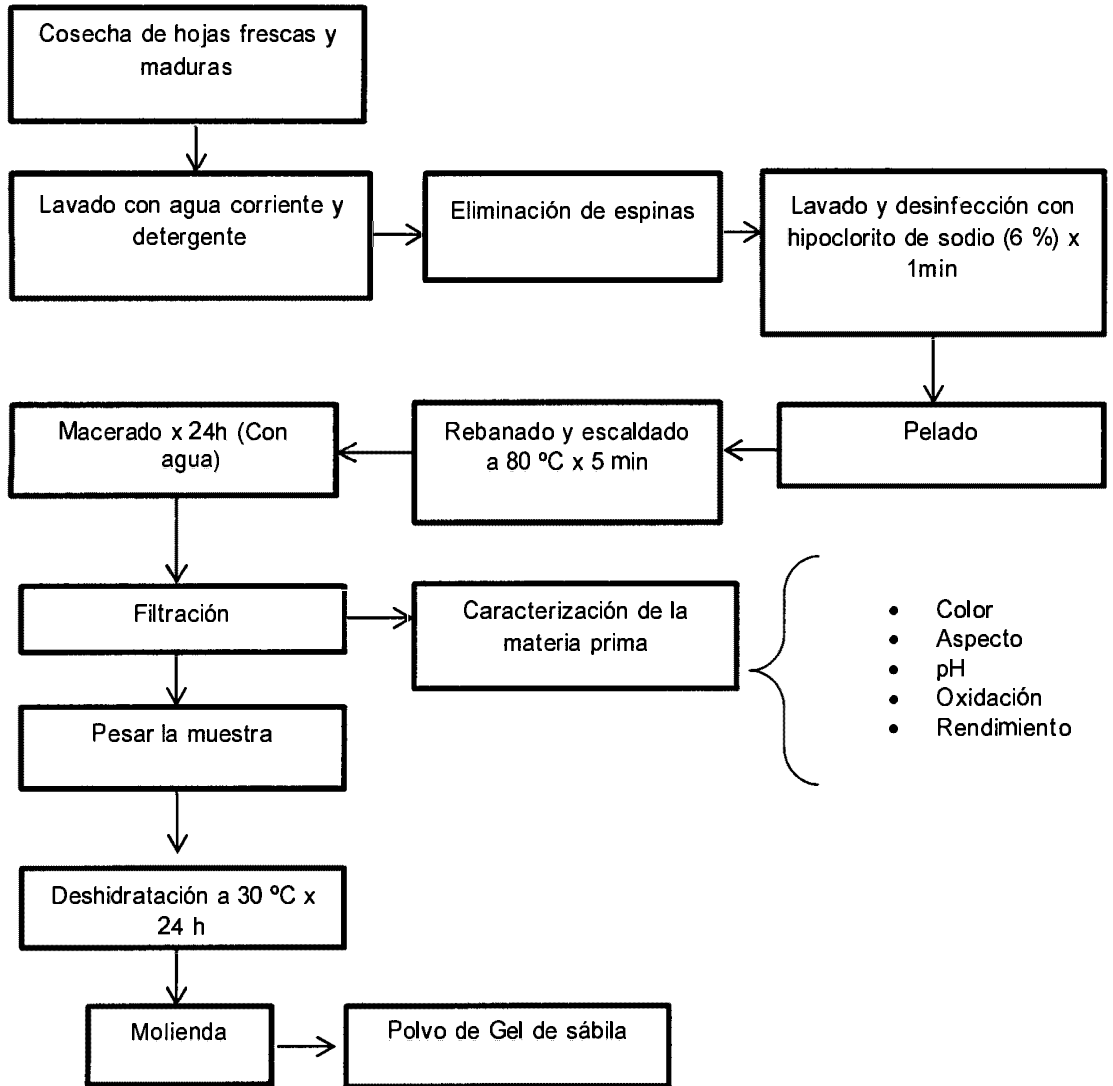


Figura 8. Metodología del proceso de extracción de gel de *opuntia ficus indica* "tuna"



Anexo 8

Procedimiento de la extracción de gel de *Aloe vera* “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna”

Figura 9. Procedimiento de la extracción de gel de *Aloe vera* “sábila”



a) planta madura, b) eliminación de espinas, c) lavado y desinfección, d) eliminación de acíbar, e) descortezado, f) pulpa de *A. vera*, g) filtrado, h) gel deshidratado, i) gel en polvo

Figura 10. Procedimiento de la extracción de gel de *Opuntia ficus indica* "tuna"

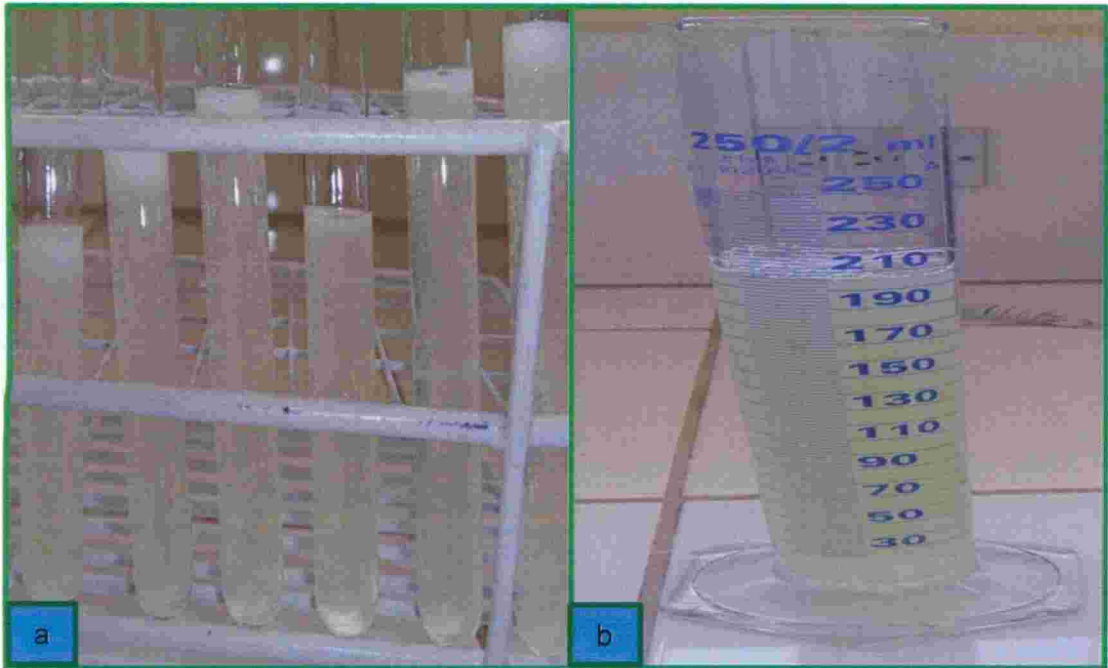


a) penca madura, b) lavado y desinfección, c) Rebanado, d) Troceado, e) escaldado, f) macerado, g) gel, h) deshidratado, i) gel en polvo.

Anexo 9

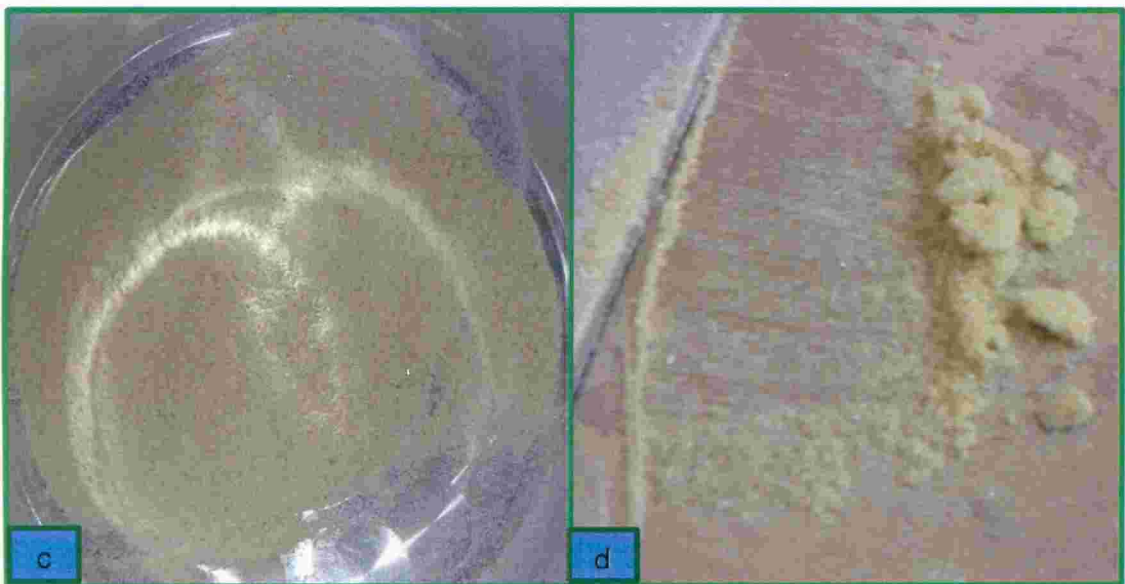
Evaluación de las características de gel líquido y seco de *Aloe vera* “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna”

Figura 11. Gel líquido y seco de *Aloe vera* “sábila” y *Opuntia ficus indica* “tuna”



Gel líquido: a) sábila

b) tuna



Gel seco: c) sábila

d) tuna

Anexo 10

Figura 12. Determinación del pH y peso seco de gel de *Aloe vera* "sábila"



a) Determinación del pH

b) Determinación del peso seco

Anexo 11

Figura 13. Evaluación de la oxidación de gel líquido de *Aloe vera* "sábila" a diferentes concentraciones de ácido ascórbico



a) 25 mg/l,

b) 50 mg/l,

c) 100 mg/l

d) Blanco




Anexo 12

Figura 14. Evaluación de la oxidación de gel en polvo de *Aloe vera* "sábila" a diferentes concentraciones de ácido ascórbico



Anexo 13

Figura 15. Cuadro de colores para determinación del grado de oxidación de gel de *Aloe vera* "sábila"

Grado de oxidación	Color
Oxidación Alta	
Oxidación Media	
Sin Oxidación	

Anexo 14

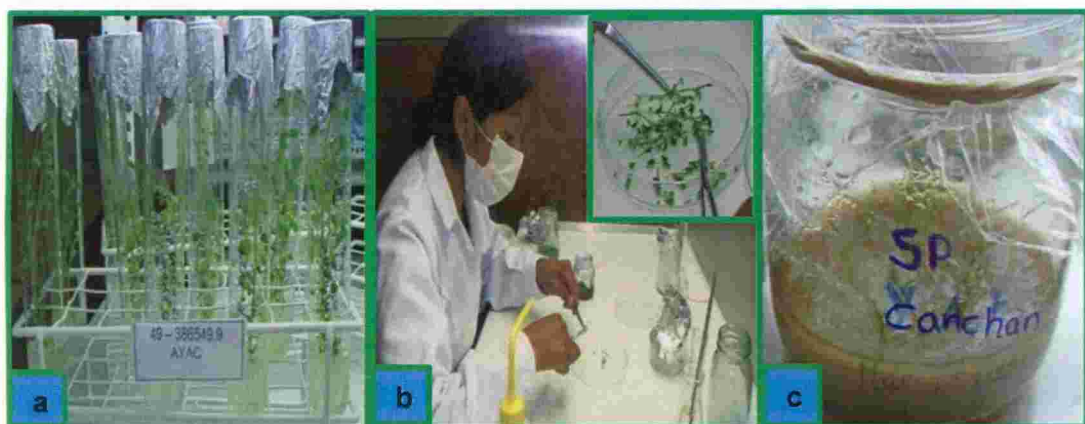
Figura 16. Proceso de preparación de medios de cultivo



- a) Preparación de MS, b) ajuste de pH, c) vertido de MS a tubos de ensayo, d) frascos conteniendo medio de cultivo a base de gel de *A. vera*.

Anexo 15

Figura 17. Micropropagación y crecimiento *in vitro* de explantes de papa



a) Planta madre

b) corte de explantes

c) explantes micropropagados

Anexo 16

Crecimiento *in vitro* de explantes de *Solanum tuberosum* "papa" en medio de cultivo para la sustitución total y parcial de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"

Figura 18. Crecimiento *in vitro* de explantes de *Solanum tuberosum* "papa" en medio de cultivo para la sustitución total de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"



Figura 19. Crecimiento *in vitro* de explantes de *Solanum tuberosum* "papa" en medio de cultivo para la sustitución parcial de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"



Anexo 17

Plántulas de *Solanum tuberosum* "papa" después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución parcial y total de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"

Figura 20. Plántulas de *Solanum tuberosum* "papa" después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución parcial de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"



Figura 21. Plántulas de *Solanum tuberosum* "papa" después de 25 días de micropropagación en medio de cultivo con sustitución total de agar con gel de *Aloe vera* "sábila"





EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Biología, **Srta. Zilda, CHIPANA REZZA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CACTACEAE
GENERO	:	Opuntia
ESPECIE	:	<i>Opuntia ficus indica</i> (L) Mill.
N.V.	:	"tuna"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 15 de Abril del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bigo. Luzmila Huacastani Medina
JEFE



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

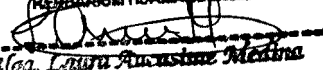
Que, la Bach. en Biología, **Srta. Zilda, CHIPANA REZZA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	LILIOPSIDA
SUB CLASE	:	LILIIDAE
ORDEN	:	LILIALES
FAMILIA	:	LILIACEAE
GENERO	:	Aloe
ESPECIE	:	<i>Aloe vera L.</i>
N.V.	:	"sábila"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 15 de Abril del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Blga. Laura Agustina Medina
JEFE

TÍTULO: Evaluación de los geles de *Opuntia ficus indica* "tuna" y *Aloe vera* "sábila" como soporte sólido para medio de cultivo *in vitro* de *Solanum tuberosum* "papa" Ayacucho - 2011.

AUTORA: Bach. Zilda Chipana Rezza

PROBLEMA	OBJETIVO	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>¿Los geles de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" y <i>Aloe vera</i> "sábila" serán eficientes como soporte sólido para medio de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> "papa"?</p>	<p>General: - Evaluar la eficiencia de los geles de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" y <i>Aloe vera</i> "sábila", como soportes sólidos para medio de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> "papa".</p> <p>Específicos: - Estandarizar un protocolo para la extracción de geles de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" y <i>Aloe vera</i> "sábila". - Determinar las concentraciones óptimas de geles para la elaboración de medio de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> "papa". - Evaluar el desarrollo <i>in vitro</i> de explantes de <i>Solanum tuberosum</i> "papa".</p>	<p>De los componentes de los medios de cultivo que más inciden en su costo está el agente solidificante. El agar ha permanecido como uno de los agentes solidificantes más frecuentemente utilizados, alumiéndose su inocuidad sobre los tejidos. Sin embargo, algunas dudas se han generado sobre su inocuidad, por lo que algunas marcas comerciales han tenido que garantizar que han sido probadas para su uso en medios de cultivos para plantas y con ello se ha elevado el costo de los mismos (INCI, 2006).</p> <p>Rodríguez y Hechevarría (2006), reportaron el estudio realizado en el Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), donde obtuvieron resultados demostrando la posibilidad de la sustitución total o parcial del agar empleado tradicionalmente, por gel de <i>Aloe vera</i> y/o harina de sagú.</p> <p>Ruiz y Guerrero (2009); mencionan que el mucilago de tuna tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua, así como de modificar propiedades como viscosidad, elasticidad, textura, retención de agua.</p> <p>La micropropagación se le relaciona con la propagación masal de determinadas plantas a un precio competitivo, como técnica de intensificación de la producción de material vegetal (Seemann, 1993).</p>	<p>Los geles de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" y <i>Aloe vera</i> "sábila" serán eficientes como soportes sólidos para medio de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> "papa".</p>	<p>Variable independiente: Geles de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" y <i>Aloe vera</i> "sábila".</p> <p>Indicadores: - Concentración de los geles. - Tipos de geles.</p> <p>Variable dependiente: soporte sólido para medio de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Solanum tuberosum</i> "papa"</p> <p>Indicadores: -Sobrevivencia de los explantes de papa. -Altura -Número de hojas. -Número de raíces.</p>	<p>Población: Plantas de <i>Aloe vera</i> "sábila", y <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna". Procedentes de la provincia de Huamanga, Región Ayacucho. Muestra: Hojas de <i>Aloe vera</i> "sábila" y cladodios de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna".</p> <p>DISEÑO EXPERIMENTAL</p> <ul style="list-style-type: none"> •Extracción del gel de <i>Aloe vera</i> "Sábila" •Extracción del mucilago de <i>Opuntia ficus indica</i> "tuna" •Elaboración de los tratamientos •Micropropagación y adaptación <i>in vitro</i> de papa •Evaluaciones <p>Diseño Estadístico: Los datos se procesarán mediante análisis de varianza (ANVA) y se tomará el valor promedio por tratamiento de las plántulas evaluadas en cada especie. También se aplicará la prueba de rangos múltiples de Duncan</p>