



Producción de Semilla Prebásica de cinco variedades nativas de papa provenientes del Banco de Tubérculos y Raíces Andinas

Carol Rocabado Espinoza^{1*}, Luis Mercado Martínez¹, Edwin Iquize Villca¹

¹Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal, Av. Blanco Galindo Km 5.5, Casilla 832, Cochabamba, Bolivia

*Autor para correspondencia: carolrocbado@hotmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue realizar la limpieza viral y la producción de semilla prebásica de 5 variedades nativas de papa priorizadas en base a su importancia social, cultural y comercial (Laram Pala, Yana Imilla, Sani Imilla Negra, Azul Luki, Pinta Boca). El proceso de limpieza viral (termoterapia y cultivo de meristemos) fue exitoso en las 5 variedades priorizadas para 7 especies virales (PVX, PVY, PLRV, PVS, APMV, APLV y PVA). En el proceso de producción de semilla prebásica se obtuvieron 5 calibres de tubérculos (II-VI) y un rendimiento de entre 4.4 Kg•m⁻² y 6.1 Kg•m⁻², dependiendo de la variedad. El número de tubérculos obtenidos también varió en función de la variedad entre 313 tubérculos•m⁻² y 882 tubérculos•m⁻². Es necesario profundizar el presente trabajo mediante una valoración de la incidencia viral antes y después del proceso de limpieza viral y haciendo una comparación con variedades mejoradas bolivianas.

Palabras clave: Semilla prebásica, *Solanum tuberosum* spp. *andigenum*, multiplicación

Abstract

The objective of this work was to perform virus elimination and production of pre-basic seed potato of 5 native landraces prioritized based on their social, cultural and commercial importance (Laram Pala, Yana Imilla, Sani Imilla Negra, Azul Luki, Pinta Boca). The process of virus elimination (thermotherapy and meristem culture) was successful in the 5 prioritized landraces for 7 viral species (PVX, PVY, PLRV, PVS, APMV, APLV and PVA). In the process of producing pre-basic seed potato, 5 calibers of tubers were obtained (II-VI) and a yield that ranged from 4.4 Kg•m⁻² to 6.1 Kg•m⁻², depending on the landrace. The number of tubers obtained also varied as a function of the landrace between 313 tubers•m⁻² and 882 tubers•m⁻². It is necessary to deepen the present study through a measurement of the viral incidence before and after the process of virus elimination and making a comparison with improved Bolivian cultivars.

Keywords: Pre-basic seed, *Solanum tuberosum* spp. *andigenum*, multiplication



Introducción

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es el cultivo de mayor importancia alimentaria después de los cereales (CIP, 2010), ocupando un lugar preponderante en muchos países. Actualmente está difundida en 138 países, distribuida en 18 millones de hectáreas (Quiñones et al., 2004).

En Bolivia se cultiva en pequeñas superficies dentro de zonas altas e interandinas, representando la principal fuente de ingresos de 125 000 personas en la fase productiva, industrial y de comercialización (Gabriel et al., 2011). Tiene un rendimiento promedio de $6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, pudiendo alcanzar en los valles interandinos de Cochabamba y mesotérmicos de Santa Cruz hasta $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, mientras que el rendimiento a nivel mundial es de $16 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Una de las razones que explica esta situación es el uso de semilla de baja calidad, procedente de plantas infectadas con virus en sucesivas campañas de siembra (semilla “cansada”). El agricultor bajo estas condiciones no desea utilizar tubérculo-semilla de su propia cosecha (Iriarte et al., 2001).

Esto hace necesario avanzar hacia técnicas más eficientes, que permitan producir semilla de alta calidad genética y sanitaria, que se encuentre disponible para los agricultores, evitando de esta forma que cultivares nativos degenerados sean descartados y reemplazados por otros cultivos, perdiéndose la diversidad genética nativa (Iriarte et al., 2001).

Uno de los sistemas que permite la obtención de material de alta sanidad, es la producción de semilla prebásica en ambientes confinados que evitan la entrada de vectores y aíslan el ambiente, con la finalidad de evitar focos de infección viral todo el año, obteniendo así un sistema de producción a largo plazo. Para esto es importante disponer de núcleos iniciales generados de plantas *in vitro* de la más alta calidad sanitaria (Hidalgo et al., 1997).

En ese entendido y a solicitud de las instituciones dedicadas a la producción de semilla de papa del Departamento de Cochabamba, Federación de Semilleristas de Cochabamba (FEDESCO), la Asociación de Productores de Semilla de Papa (APROSEPA, Potosí - Villazón) y de los agricultores interesados, se seleccionaron varios cultivares nativos, de los cuales cinco fueron elegidos en base a su importancia social, cultural y comercial, para ser sometidos a un proceso de limpieza viral y producción de semilla prebásica.

La presente publicación, evalúa el comportamiento productivo de semilla prebásica de cada una de las 5 variedades nativas seleccionadas, que serán entregadas por el INIAF a los productores de semilla de papa de las zonas tradicionales de producción de papas nativas del país, reafirmando así el rol del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF) en la conservación y manejo de germoplasma de tubérculos andinos y su aporte a la seguridad con soberanía alimentaria de nuestros pueblos.

Materiales y Métodos

Esta experiencia se desarrolló en la Estación Experimental Toralapa (E.E. Toralapa) del Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal (INIAF), dependiente del Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras (MDRyT), en el departamento de Cochabamba durante la campaña 2012-2013. Dicho trabajo se realizó en dos fases: Fase de multiplicación *in vitro* y fase de producción en invernadero, de acuerdo a protocolos utilizados anteriormente (Aguirre et al., 2010).

Material Vegetal

Como material vegetal se utilizaron vitro-plantas de papa, de las accesiones detalladas en el Cuadro 1, libres de virus, testadas mediante la prueba de inmunoabsorción con conjugados enzimáticos, modalidad directa de emparejado de doble anticuerpo (DAS-ELISA).

Cuadro 1. Origen de las cinco accesiones (variedades nativas) del Banco de Tubérculos y Raíces Andinas, priorizadas para la producción de semilla prebásica. Se utiliza la clasificación taxonómica propuesta por Huaman y Spooner (2002).

Código	Nombre	Especie	Departamento
BOL1382	Laram Pala	<i>Solanum tuberosum</i> subsp. <i>andigenum</i> (Juz. & Bukasov) Hawkes	Oruro
BOL2840	Yana Imilla	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigenum</i> (Juz. & Bukasov) Hawkes	Potosí
BOL2878	Sani Imilla Negra	<i>S. tuberosum</i> subsp. <i>andigenum</i> (Juz. & Bukasov) Hawkes	La Paz
BOL3381	Azul Luki	<i>Solanum juzepczukii</i> Bukasov	Potosí
BOL4827	Pinta Boca	<i>Solanum stenotomum</i> Juz. & Bukasov	Cochabamba

Multiplicación de plántulas *in vitro*

El periodo de multiplicación tuvo una duración de tres meses, siguiendo la proyección de producción de semilla prebásica de papa 2012-2013 en la E.E.Toralapa. Se usó una progresión geométrica, con dos factores para el cálculo del volumen de producción: el factor de multiplicación (1:4) y la velocidad de crecimiento (27 días). Se colocaron 25 explantes en cajas plásticas transparentes de 6×10 cm (magenta) con medio de cultivo desarrollado en el centro internacional de la papa (CIP) compuesto por sales y minerales de Murashige y Skoog (1962), tiamina 0.4 mg•L⁻¹, mioinositol 100 mg•L⁻¹, paca 2 mg•L⁻¹ y sacarosa 3%, ajustado a un pH de 5.7. Las condiciones de cultivo fueron: 16 h de fotoperiodo con luz fluorescente (2000-2500 lux) y temperatura de 21°C.

Para la fase de emisión de raíces, última etapa de la multiplicación, se adicionó al medio de cultivo 3 g•L⁻¹ de carbón activado.

Producción en invernadero

Las plántulas propagadas *in vitro*, fueron transplantadas en camas de madera con sustrato estéril, compuesto por dos partes de arena y una de tierra vegetal (2:1), esterilizado a 90°C y a 4 atm de presión. Estas se extrajeron del medio sintético con ayuda de una pinza y con mucho cuidado se distribuyeron de forma espaciada en cinco hileras a una densidad de 50 plantas•m⁻², en hoyos de 3-4 cm de profundidad, cubriendo aproximadamente dos tercios de la plántula (2 a 3 nudos dentro del sustrato). Luego se presionó con firmeza el suelo alrededor de las plántulas con la finalidad de favorecer el contacto entre el suelo y la raíz.

tulas con la finalidad de favorecer el contacto entre el suelo y la raíz.

Durante las primeras dos semanas, se mantuvieron las camas cubiertas con malla semisombra (35 % de transparencia) con el objetivo de mantener el ambiente sombreado fresco y húmedo, evitando la deshidratación de las vitro plántulas y para que la adaptación a su nuevo medio sea favorable.

Para prevenir efectos de hongos de suelo como los géneros *Rhizoctonia*, *Fusarium*, etc. se realizó la aplicación de Fludioxonil + Metalaxil-M (Maxim®XL, Syngenta S.A.) al suelo antes de la siembra, de acuerdo a recomendaciones del fabricante. Se desarrolló una estrategia de control de enfermedades fungosas en follaje basada en aplicaciones periódicas de Clorotalonil (Bravonil®720, Syngenta S.A.), Mancozeb (Dithane®80 NT, Dow Agrosciences S.A.) y Mancozeb + Oxiclورو de cobre (Cobrethane®, Dow Agrosciences S.A.), de acuerdo a las indicaciones de los fabricantes. Para evitar la presencia de vectores al interior del invernadero se aplicó a la infraestructura, antes de la siembra, Lambda-cihalotrina (Karate Zeon®, Syngenta S.A.) de acuerdo a las especificaciones del fabricante y en adelante de forma regular cada 15 días, para mantener a las plántulas libres del ataque de insectos.

Las plantas se regaron todos los días hasta capacidad de campo durante la fase de aclimatación (primeros 14 días) y luego cada 48 h, hasta el momento de su defoliación, cuando se suprimió el riego.



La fertilización de macro nutrientes se realizó con un fertilizante de síntesis (Kelpak®, Compo Agro Ltda.) con un nivel de 150-150-150 a razón de 300 g aplicado en forma fraccionada: Una primera aplicación al momento del trasplante de 115 g y 185 g en el aporque. Para cubrir los requerimientos de micro nutrientes se realizaron aplicaciones foliares de Mn, Fe, Cu, Zn, B, Mo, MgO y S (Fetrilon® Combi 1, Compo GMBH & Co.). Finalmente se realizaron aplicaciones para promover el desarrollo del follaje, raíces y tuberización con K₂O + SiO₂ (AgriSil®K50, Plant Health Products Ltd.) y con una mezcla de péptidos y nucleótidos (PerfectDigest®FPI, Bluewave Marine Ingredients).

Para el control de calidad, se realizó una prueba de control de virus (PVX, PVY, PLRV, PVS, APMV, APLV y PVA), por medio del test de DAS-ELISA.

La defoliación se realizó cuando las plantas completaron su ciclo biológico (más de 50% del follaje amarillo). La cosecha se realizó a los 160 días de la siembra, aproximadamente 14 días después de la defoliación.

La clasificación de los tubérculos cosechados consistió en separar los tubérculos de acuerdo al tamaño establecido para su comercialización: >40 mm = calibre II, 30-40 mm = calibre III, 20-30 mm = calibre IV, 10-20 mm = calibre V y <10 mm = calibre VI, para ser pesados y contados por calibre. Finalmente los tubérculos fueron almacenados.

Diseño y Análisis Estadísticos

Las variables peso de tubérculos por tamaño y total fueron procesados con el modelo lineal general bajo la estructura del diseño completamente al azar. Esta estructura también se empleó para el número de tubérculos pero fue procesado con el modelo lineal generalizado bajo el supuesto de distribución de Poisson (Montgomery, 2003; SAS Institute Inc., 2013; Steel, Torrie and Dickey, 1997). El porcentaje total de tubérculos se obtuvo a partir de la fórmula.

$$\text{Tubérculos(\%)} = \frac{\text{No. de tubérculos obtenidos por calibre}}{\text{No. total de tubérculos por cama}} \times 100$$

A partir de este dato y del rendimiento se determinó el efecto de la variedad dentro de cada calibre. Para esto se utilizaron las pruebas de Wald y de χ^2 , separándose las medias mediante la prueba t de Tukey.

Resultados y Discusión

Limpieza viral de variedades

Como se observa en el Cuadro 2 los resultados obtenidos mediante la prueba DAS-ELISA fueron negativos para las variedades priorizadas y para los siete virus considerados.

Multiplicación de plántulas *in vitro* libres de virus

Una vez realizada la termoterapia, el cultivo de meristemos y la prueba DAS-ELISA se procedió a la multiplicación de las vitroplantas para

Cuadro 2. Resultados de la prueba DAS-ELISA para detección de 7 especies de virus en plantines provenientes de laboratorio sometidos a termoterapia y cultivo de meristemos (Lab) y en plantines provenientes de invernadero (Inv) de las cinco variedades nativas priorizadas para producción de semilla prebásica.

Variedad	PVX		PVY		PVS		PLRV		PVA		APMV		APLV	
	Lab	Inv	Lab	Inv	Lab	Inv	Lab	Inv	Lab	Inv	Lab	Inv	Lab	Inv
Laram Pala	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Yana Imilla	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Sani Imilla Negra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Azul Luki	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pinta Boca	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(-): Negativo

cubrir el requerimiento de 20 camas en invernadero de acuerdo a lo detallado en el Cuadro 3.

Variedad	No. de vitroplantas	No. de camas
Laram Pala	1015	5
Yana Imilla	1315	6
Sani Imilla Negra	1315	6
Azul Luki	450	2
Pinta Boca	235	1

Producción de semilla prebásica

De acuerdo a los resultados que se presentan en el Cuadro 4, se produjeron 321.7 Kg y 32 345 tubérculos de las cinco variedades, siendo la variedad Yana Imilla la que tuvo los rendimientos más altos tanto en peso (109.0 Kg) como en número de tubérculos (15 869).

Adicionalmente se observó que, del total producido en peso, el calibre III representó el mayor porcentaje (32.85%) y el calibre VI representó el menor (1.21%). Para el número de tubérculos por calibre, se obtuvo un mayor porcentaje en el calibre V (37.68%), seguido del calibre IV (29.07%).

Proporción de número de tubérculos por tamaño y por variedad

En la Figura 1 se muestra que, de las cinco variedades en estudio, las variedades Sani Imilla Negra y Pinta Boca fueron las que presentaron las proporciones en número de tubérculos de calibre II (15.3% y 8.1%, respectivamente). En lo que respecta al calibre III, la mayor proporción se observó en la variedad Azul Luki (28.7%) y la menor en Yana Imilla (10.2%). Las

variedades Laram Pala y Azul Luki presentaron una mayor proporción de número de tubérculos en el calibre IV (34.6% y 33.6%, respectivamente). En la variedad Laram Pala se observó una proporción en número de tubérculos del calibre V próxima al 50% y en la variedad Azul Luki una menor proporción en este calibre (32.2%). Asimismo, se muestra que la variedad Yana Imilla fue la única con tubérculos de calibre VI (21.5%).

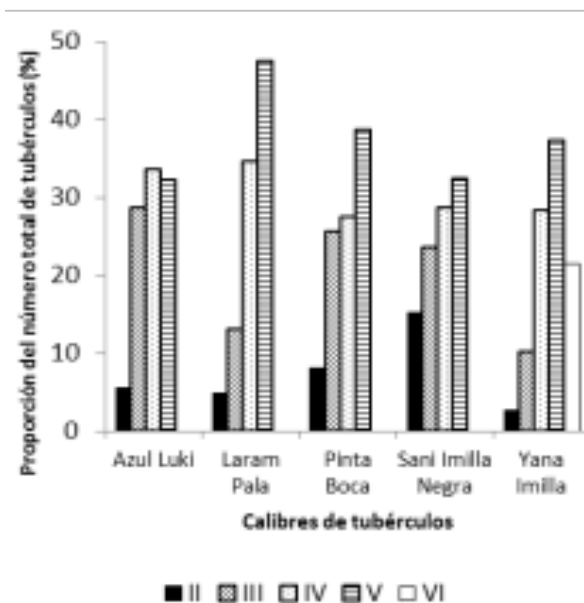


Figura 1. Proporción del número de tubérculos por calibre, según variedades nativas.

El análisis de la razón de probabilidad para la ocurrencia del número de tubérculos por tamaño mostró que existen diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las variedades en cuanto a la proporción del número de tubérculos.

Cuadro 4. Resumen de producción de semilla prebásica de las cinco variedades nativas, expresada en número de tubérculos y en peso en kilogramos, mostrada por variedad y calibre.

Variedad	II		III		IV		V		VI		Total	
	No.	Peso	No.	Peso	No.	Peso	No.	Peso	No.	Peso	No.	Peso
Laram Pala	162	7.4	435	9.4	1 147	11.5	1 571	4.3			3 315	32.6
Yana Imilla	421	14.5	1 618	31.1	4 500	40.5	5 920	19.0	3410	3.9	15 869	109.0
Sani Imilla Negra	716	39.8	1 107	28.1	1 351	16.0	1 521	4.7			4 695	88.6
Azul Luki	55	2.5	284	6.2	333	3.2	319	1.2			991	13.1
Pinta Boca	650	21.7	1 894	30.9	2 074	16.8	2 857	9.0			7 475	78.4
Total	2 004	85.9	5 338	105.7	9 405	88	12 188	38.2	3 410	3.9	32 345	321.7



Número promedio de tubérculos y número de tubérculos por unidad de superficie

Cuadro 5. Promedio del número de tubérculo según el calibre y según las variedades nativas.

Variedad	II	III	IV	V	VI
Laram Pala	27.0 c	72.5 c	191.2 b	261.8 b	0.0
Yana Imilla	23.3 cd	90.0 b	249.8 a	329.0 a	1 137.0
Sani Imilla Negra	47.8 a	73.8 c	89.8 d	101.4 d	0.0
Azul Luki	18.3 d	94.7 b	111.0 cd	106.3 d	0.0
Pinta Boca	35.8 b	113.0 a	121.0 c	170.0 c	0.0

Promedios indicados con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ($p=0.05$) según las pruebas de mínimos cuadrados y χ^2 .

El número de tubérculos promedio para el calibre II fue mayor en la variedad Sani Imilla Negra (47.8). Para el calibre III, el máximo número promedio de tubérculos se obtuvo con la variedad Pinta Boca (113.0). La variedad Yana Imilla presentó el mayor número promedio de tubérculos para los calibres IV y V (249.8 y 329.0, respectivamente). En todos los casos se registraron diferencias significativas ($p=0.01$) entre variedades dentro de los calibres de tubérculos (Cuadro 5).

En cuanto al número de tubérculos por unidad de superficie (Figura 2), se puede observar que la variedad Yana Imilla fue la variedad con mayor productividad (881.5 tubérculos $\cdot$ m⁻²), seguida de la variedad Laram Pala (552.5 tubérculos $\cdot$ m⁻²). La variedad con menor productividad fue Azul Luki (330.3 tubérculos $\cdot$ m⁻²).

Peso de tubérculos por calibre y por unidad de superficie

Como se observa en el Cuadro 6, se evidenciaron diferencias significativas entre las variedades para el rendimiento promedio de tubérculos por unidad de superficie para todos los calibres excepto el III. En el calibre II se obtuvo el mayor rendimiento con la variedad Sani Imilla Negra (2.66 Kg $\cdot$ m⁻²). Para el calibre III, pese a no evidenciarse diferencias significativas, el mayor rendimiento se registró con la variedad Azul Luki (2.07 Kg $\cdot$ m⁻²). La variedad Yana

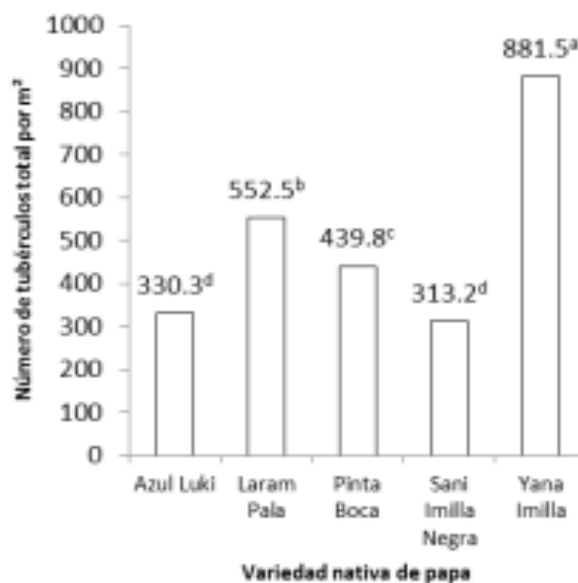


Figura 2. Número de tubérculos por unidad de superficie según variedades nativas. Promedios indicados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p=0.05$) según las pruebas de mínimos cuadrados y χ^2 .

Imilla tuvo los mayores rendimientos para los calibres IV y V (1.06 Kg $\cdot$ m⁻² y 0.22 Kg $\cdot$ m⁻², respectivamente).

Cuadro 6. Rendimiento promedio de tubérculos (Kg $\cdot$ m⁻²) según el calibre y según las variedades nativas.

Variedad	II	III	IV	V	VI
Laram Pala	1.23 b	1.57 a	1.92 a	0.40 c	0.00
Yana Imilla	0.81 b	1.73 a	2.25 a	1.06 a	0.22
Sani Imilla Negra	2.66 a	1.87 a	1.07 b	0.31 c	0.00
Azul Luki	0.83 b	2.07 a	1.07 b	0.40 c	0.00
Pinta Boca	1.16 b	1.81 a	0.97 b	0.54 bc	0.00

Promedios indicados con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ($p=0.05$) según las pruebas de mínimos cuadrados y t de Tukey.

En cuanto al rendimiento total de tubérculos por variedad (Figura 3) se observó que con la variedad Yana Imilla se obtuvo el rendimiento más alto (6.06 Kg $\cdot$ m⁻²), seguido por el de la variedad Sani Imilla Negra (5.91 Kg $\cdot$ m⁻²). El rendimiento más bajo se registró con la variedad Azul Luki (4.37 Kg $\cdot$ m⁻²).

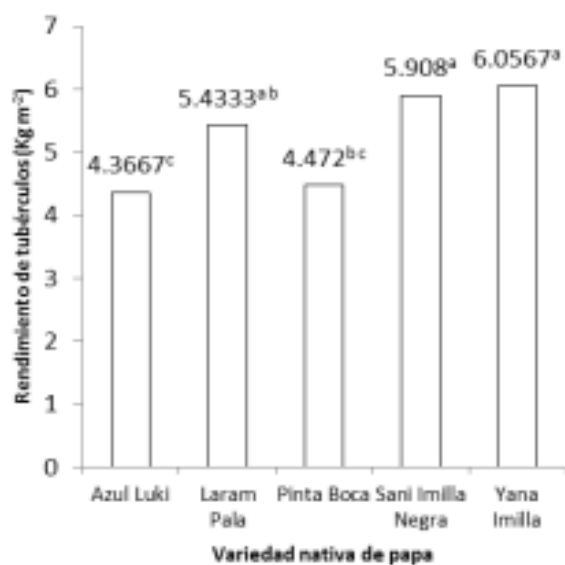


Figura 3. Rendimiento de tubérculos por unidad de superficie según variedades nativas. Promedios indicados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p=0.05$) según las pruebas de mínimos cuadrados y t de Tukey.

Conclusiones

Las variedades (accesiones) provenientes del Banco de Germoplasma administrado por el INIAF, Laram Pala, Yana Imilla, Sani Imilla Negra, Azul Luki y Pinta Boca, fueron sometidas a termoterapia y cultivo de meristemos y fueron exitosamente liberadas de los virus PVX, PVY, PVS, PLRV, PVA, APMV y APLV.

Se produjeron 321.7 Kg y 32 345 tubérculos de semilla pre básica de las cinco variedades en los calibres II, III, IV, V y VI.

En experiencias anteriores con variedades de papas nativas se han reportado niveles de limpieza viral de hasta 95% utilizando termoterapia y cultivo de meristemos (Delgado et al., 2010). Es necesario mencionar que dichos niveles probablemente hayan sido superados en el presente trabajo, pero para hacer tal aseveración es necesario hacer un estudio sistemático de la metodología empleada. Como ejemplo se puede mencionar que el rendimiento obtenido por la variedad Sani Imilla Negra en el presente estudio ($5,91 \text{ Kg} \cdot \text{m}^{-2}$) fue superior al reportado

previamente ($0.8 \text{ Kg} \cdot \text{m}^{-2}$) bajo condiciones de camas protegidas en la E.E. Toralapa (Iriarte et al., 2001).

En lo que respecta a la infección natural por virus encontrada en cultivares nativos en el Perú (Bertschinger et al., 1990), se ha reportado que existe una mayor incidencia de PLRV y APLV en cultivares nativos (*Solanum goniocalyx*, *S. chaucha* y *S. tuberosum* ssp. *andigenum*). Estos datos indican que es necesario profundizar el presente trabajo haciendo una valoración de la incidencia viral antes y después de la limpieza viral y haciendo una comparación con variedades mejoradas bolivianas, existentes en el Banco de Germoplasma administrado por el INIAF. De esta manera, además de la limpieza viral se le estará dando un valor agregado al material genético conservado.

Agradecimientos

El presente trabajo fue parcialmente financiado por el Proyecto Coreano para la Agricultura Internacional (KOPIA) de la Agencia de Cooperación Internacional de Corea (KOICA). Se agradece profundamente dicha cooperación.

Referencias

- Aguirre, G; Baudoin, J.P; Leigue, L. 2010. Aplicación del cultivo de tejidos en la multiplicación y conservación de los recursos filogenéticos. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias, Forestales y Veterinarias. Cochabamba, Bolivia.
- Bertschinger, L; Scheidegger, U; Luther, K; Pinillos, O; Hidalgo, A. 1990. La incidencia de virus de papa en cultivares nativos y mejorados en la Sierra Peruana. Revista Latinoamericana de la Papa. 3: 62-79.
- CIP. 2010. Facts and figures about potato. CIP. Lima, Perú.
- Delgado, C; Monteros, C; Benítez, J. 2010. Evaluación de tres sistemas de termoterapia y

cultivo de meristemas en cuatro variedades promisorias de papas nativas (*Solanum* spp.) para la erradicación de virus. En I Congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de Papas Nativas: Memorias. INIAP. Quito, Ecuador.

Gabriel, J; Pereira, R; Gandarillas, A. 2011. Catálogo de nuevas variedades de papa en Bolivia. PROINPA. Cochabamba, Bolivia.

Hidalgo, O; Marca, J; Palomino, L. 1997. Producción de semilla prebásica y básica usando métodos de multiplicación acelerada. CIP. Lima, Perú.

Huaman, Z; Spooner, D.M. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). American Journal of Botany. 89(6): 947-965.

Iriarte, V; Badani, A.G; Villarroel, C.L; Aguirre, G; Fernández-Northcote, E.N. 2001. Priorización, limpieza viral, producción de semilla de calidad básica y devolución de cultivares nativos libres de virus. Revista Latinoamericana de la Papa. 12: 72-95.

Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum, 15(3): 473-497.

Quiñones, Y; Izquierdo, H; Martínez, O; Alcántara, P; Rodríguez, E. 2004. Métodos alternativos para la producción de semilla prebásica de papa (*Solanum tuberosum* L.). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba. 35(3): 23-27.