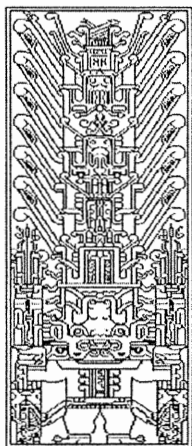


**UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO
VILLARREAL**
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



**"Efecto del ácido abscísico, ácido 2-cloroetil fosfónico y ácido
cafeico sobre la tuberización *in vitro* y la dormancia de
microtubérculos, para su uso en la conservación de germoplasma
de papa"**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Bach. CATHERINE GIOVANNA ESPINOZA NOMBERTO

Asesor interno: Biol. Rafael La Rosa Loli
Asesor externo: PhD. William Roca Pizzini

Lima – Perú
2005

*A mis padres,
por su sacrificio, ejemplo
y apoyo incondicional*

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Internacional de la Papa por el financiamiento para la ejecución de la tesis y por las facilidades brindadas en cuanto a instalaciones y equipos.

Al Dr. William Roca por su confianza al darme la oportunidad de llevar a cabo mi trabajo de tesis bajo su supervisión.

A la bióloga Judith Toledo, quien me dio la oportunidad de entrar al CIP, además por su consejo acertado, apoyo y amistad.

Al Dr. Jai Gopal, del Central Potato Research Institute (India), por su colaboración en el proyecto de tesis y su consejo durante el desarrollo de la misma.

A las Blgas. Ana Panta y Giovanna Perazzo por su amistad, colaboración y sugerencias para la realización del trabajo.

A la Sra. Mariana de Martin, nuestra eficiente secretaria y gran amiga por su amabilidad y siempre buena disposición y por su amistad.

A todo el personal técnico del Laboratorio de cultivo de tejidos, en especial a la Sra. Rosalva Villagaray, por el aporte de experiencia, apreciada amistad y ayuda en cada etapa del trabajo.

A mi asesor de tesis, Blgo. Rafael La Rosa, por sus enseñanzas, amistad y haber despertado mi interés en esta rama de la ciencia, la fisiología vegetal.

A mis profesores miembros del jurado por sus aportes que permitieron mejorar este trabajo.

A todos mis amigos del CIP por su amistad, consejos y gratos momentos compartidos lo cual hizo que la realización de este trabajo de tesis fuese una linda experiencia. En

especial a Ana María Santolalla y Nancy Chauca por compartir tanto experiencias laborales como personales durante nuestras charlas de café.

A mis amigos de la UNFV, Elizabeth, Martín, Henry, Francisco, Juliana y Enrike por su valiosa amistad y gratos momentos.

A mis padres y hermanos por soportar mi desorden “científico” y alentarme en mi desarrollo profesional. También agradecer a mi mamá Melva y mi tío Segundo quienes siempre me han apoyado en todos los aspectos de mi vida.

A Guillermo por su paciencia, serenidad, cariño y ayuda profesional.

INDICE

INTRODUCCION	1
I. MARCO TEORICO	3
I.1 Sistemática	3
I.2 Morfología de la papa	5
I.3 Importancia del cultivo de papa	6
I.4 Formación del tubérculo de papa	7
I.4.1. Factores inductores de la formación del tubérculo de papa	7
I.4.2. Reguladores del crecimiento involucrados en la tuberización	8
I.4.3. Otros compuestos involucrados en la tuberización <i>in vitro</i>	9
I.5 Dormancia del tubérculo	9
I.5.1. Concepto de dormancia	9
I.5.2. Balance hormonal de la dormancia del tubérculo de papa	10
I.5.3. Factores que afectan el período de dormancia	11
I.6 Técnicas de cultivo de tejidos para la conservación del germoplasma de papa	12
II. MATERIALES Y METODOS	14
II.1 Materiales	14
II.1.1. Lugar de ejecución	14
II.1.2. Material	14
II.1.3. Reguladores de crecimiento	15
II.1.4. Insumos de laboratorio	15
II.1.4.1. Equipo	15
II.1.4.2. Reactivos	16
II.1.4.3. Material de vidrio y otros	16
II.2 Métodos	17
II.2.1. Propagación de plántulas <i>in vitro</i>	17
II.2.2. Inducción de microtubérculos	18
II.2.2.1. Preparación de medios de inducción	18

II.2.2.2. Cultivo en medios de inducción	18
II.2.2.3. “Cosecha” de microtubérculos	18
II.2.3. Instalación del experimento de dormancia	19
II.2.4. Uso de microtubérculos como propágulos para la conservación	19
II.2.4.1. Preparación del medio de conservación <i>in vitro</i>	19
II.2.4.2. Siembra en el medio de conservación	19
II.2.5. Evaluaciones	20
II.2.5.1. Inducción de microtubérculos	20
II.2.5.2. Dormancia del microtubérculo	20
II.2.5.3. Conservación <i>in vitro</i> usando microtubérculos	21
II.3. Análisis estadístico	21
II.3.1. Diseño Experimental	21
III. RESULTADOS	23
III.1 Inducción y producción de microtubérculos	23
III.2 Dormancia de los microtubérculos	45
III.3 Uso de los microtubérculos como propágulos para la conservación <i>in vitro</i>	46
IV. DISCUSION	51
IV.1 Efecto del ABA, CEPA y ácido cafeico en la producción de microtubérculos	51
IV.2 Dormancia de los microtubérculos: efecto de los reguladores de crecimiento y la temperatura de almacenamiento	53
IV.3 Uso de los microtubérculos como propágulos para la conservación <i>in vitro</i>	56
V. CONCLUSIONES	58
VI. RECOMENDACIONES	59
VII. BIBLIOGRAFIA	60
Lista de Tablas	70
Lista de Figuras	72
ANEXOS- Glosario	74

ABREVIATURAS

- ABA Acido abscísico
- ANOVA Análisis de varianza
- BAP Bencil amino purina
- CEPA Acido 2-cloroetilfosfónico
- CCC Cloruro de clorocolina
- CIP Centro Internacional de la Papa
- EBN Número del balance del endospermo
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
- MS, Sales Sales de Murashige y Skoog (1962)

RESUMEN

Se estudió los efectos de tres reguladores de crecimiento sobre la tuberización *in vitro* y la dormancia del microtubérculo de papa, aplicados exógenamente en condiciones *in vitro*. Once medios de cultivos fueron evaluados para 10 genotipos, uno por especie de *S. tuberosum subsp. tuberosum*, *S. gonocalyx*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii*, *S. chaucha* y *S. stenotomum*, y 2 por especie de *S. tuberosum subsp. andigena* y *S. phureja*. Se usaron dos medios control; el primero compuesto de las sales basales de MS suplementado con 2 mg/l glicina, 0.5 mg/l ácido nicotínico, 0.5 mg/l piridoxina, 0.4 mg/l tiamina HCl, 80 g/l sucrosa, 3 g/l phytigel, pH 5.6; el segundo comprendió el medio basal arriba indicado más 5 mg/l BAP y 500 mg/l CCC.

Los tratamientos incluyeron el medio basal más (i) 5, (ii) 10, y (iii) 15 μ M de ABA; (iv) 0.05, (v) 0.1, y (vi) 0.25 mg/l CEPA; (vii) 5, (viii) 10 y (ix) 15 mg/l de ácido cafeico. A los 4 meses, los microtubérculos cosechados de las especies *S. tuberosum subsp. tuberosum* y *S. juzepczukii* fueron almacenados en placas petri en condiciones de oscuridad continua y bajo dos temperaturas diferentes (6-10 y 18-21°C). Se evaluó el tiempo de inducción de microtubérculos, el número de microtubérculos/envase, el peso total de la "cosecha", el peso promedio de microtubérculos y los días de dormancia (brotamiento de 50% de los microtubérculos). Los datos fueron analizados usando el programa SAS.

El ácido cafeico y el CEPA produjeron 4.8 microtubérculos/envase; el medio con BAP/CCC fue el mejor tratamiento con 8.2 microtubérculos/envase. La producción de microtubérculos en los medios con ácido abscísico fue muy baja (0-1.8 microtubérculos/envase). El almacenamiento a 6°C en completa oscuridad, usando los microtubérculos inducidos con ácido cafeico, fueron las mejores condiciones para prolongar la dormancia (1 mes) en 2 genotipos pertenecientes a las especies *S. tuberosum subsp. tuberosum* y *S. juzepczukii*. El uso de los microtubérculos

brotados como explantes para la conservación *in vitro* de germoplasma de papa es factible. Luego de 6 meses, el porcentaje de sobrevivencia fue alto (66.7-100%), y las plántulas provenientes de los microtubérculos fueron más vigorosas que las plántulas control.

ABSTRACT

In this study we evaluated the effects of three growth regulators on the *in vitro* tuberization and microtuber dormancy, exogenously supplied *in vitro*. Eleven different culture media were devised, using ten potato genotypes, one per species in *S. tuberosum subsp. tuberosum*, *S. goniocalyx*, *S. curtilobum*, *S. juzepczukii*, *S. chaucha* and *S. stenotomum*, and 2 per species in *S. tuberosum subsp. andigena* and *S. phureja*. Two control media were used: one contained the MS basal salts supplemented with 2 mg/l glycine, 0.5 mg/l nicotinic acid, 0.5 mg/l pyridoxine, 0.4 mg/l thiamine HCl, 80 g/l sucrose, 3 g/l phytigel, pH 5.6; the second comprised the above basal medium plus 5 mg/l BAP and 500 mg/l CCC. Treatments contained the basal medium plus (i) 5 μ M ABA, (ii) 10 μ M ABA, (iii) 15 μ M ABA, (iv) 0.05 mg/l CEPA, (v) 0.1 mg/l CEPA, (vi) 0.25 mg/l CEPA, (vii) 5 mg/l caffeic acid, (viii) 10 mg/l caffeic acid and (ix) 15 mg/l caffeic acid. After four months, the harvested microtubers of two species (*S. tuberosum subsp. tuberosum* and *S. juzepczukii*) were stored in petriplates under continuous darkness at two different temperatures (6-10 and 18-21°C). Days of tuber induction, number of microtubers/ flask, total microtuber yield, average microtuber weight and days of dormancy (% sprouting of 50% of microtubers) were recorded. The data was analyzed using Statistical software SAS.

Caffeic acid and CEPA produced 4.8 microtubers/flask; BAP/CCC combination was the best treatment with 8.2 microtubers/flask. Microtuber production under abscisic acid was very low (0-1.8 microtubers/flask). Storage at 6°C in complete darkness and use of caffeic acid-induced microtubers were the best conditions to lengthen dormancy (1 month) of 2 accessions of 2 different species (*S. tuberosum subsp. tuberosum* and *S. juzepczukii*). The utilization of sprouted microtubers as explants for *in vitro* conservation of potato germplasm is feasible. After 6 months, survival percentage was high (66.7-100%) and plantlets produced from microtubers showed better growth than control.

INTRODUCCIÓN

La papa *Solanum tuberosum* es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial. Las técnicas de cultivo de tejidos han sido útiles para la conservación de sus recursos genéticos, disminuyendo las pérdidas de material vegetal causados por agentes ambientales o patógenos en el campo. La optimización del método de conservación *in vitro* de papa es una tarea necesaria para reducir los costos del manejo del banco de germoplasma. La optimización busca reducir el número de subcultivos, y desarrollar métodos que funcionen con el mayor número de especies y variedades de papa.

El uso de microtubérculos para la conservación *in vitro* del germoplasma de papa es una alternativa que permitiría incrementar el tiempo de conservación a un menor costo. Además, permitiría conservar material genético libre de patógenos, para su distribución sin problemas fitosanitarios. La formación de microtubérculos, y la dormancia de los mismos, están regulados por varios factores, como son los reguladores de crecimiento u hormonas vegetales. Por ejemplo, el ácido abscísico es un inhibidor del crecimiento con efectos sobre la tuberización y la dormancia; el etileno, compuesto gaseoso inhibidor del crecimiento, también regula ambos procesos. El producto que libera etileno "CEPA" (ácido 2-cloroetil fosfónico) ha sido usado para medir el efecto del etileno sobre la tuberización; su efecto sobre la dormancia no ha sido probado aún. Otro compuesto orgánico que podría tener efecto sobre la dormancia, es el ácido cafeico, el cual se ha encontrado presente en el período de dormancia; sin embargo aún no ha sido comprobado su efecto en la tuberización *in vitro*, ni en la dormancia de microtubérculos.

El objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto del ácido abscísico, el ácido 2-cloroetil fosfónico y el ácido cafeico sobre la microtuberización y la dormancia del microtubérculo de papa para su uso en la conservación de germoplasma.

Los objetivos específicos fueron: i) evaluar el efecto del ácido abscísico, el ácido 2-cloroetil fosfónico y el ácido cafeico en la formación de microtubérculos, ii)

medir el efecto de éstos tres reguladores sobre la dormancia de los microtubérculos, iii) evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la dormancia de los microtubérculos, y iv) comparar el uso de microtubérculos versus el uso de plántulas, en la conservación de germoplasma de papa evaluando el tiempo de conservación alcanzado y la condición de las plántulas durante este tiempo.

I. MARCO TEÓRICO

I.1 SISTEMÁTICA

De acuerdo con el Sistema de Clasificación Filogenético de Cronquist (1988) la papa es clasificada de la siguiente manera:

División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Scrophulariales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>

El género *Solanum*, al cual la papa cultivada pertenece, es extremadamente grande, conteniendo 1000 especies. Se extiende por todo el mundo excepto en los polos norte y sur, con una fuerte concentración de diversidad de especies en América del Sur y Central y Australia.

La clasificación de las especies cultivadas de papas que tuberizan según Hawkes (1992) es la siguiente:

Sección PETOTA

Subsección POTATOE G. Don.

Esta sub-sección incluye a las papas verdaderas con tubérculos y estolones subterráneos, los cuales son tallos verdaderos, no raíces.

Series XVI TUBEROSA (Rydb.) Hawkes

Esta serie contiene todas las especies cultivadas de papa así como las especies silvestres y malezas cercanamente relacionadas a ellas.

Las especies cultivadas de papa son:

Diploides

Solanum ajanhuiri

Crece a altitudes de 3,800 a 4000 metros sobre el nivel del mar y es cultivada en la zona sur del Perú y norte de Bolivia. $2n=24$; EBN=2

***Solanum phureja* Juz. et Buk.**

Se distingue por su hoja con escasa pubescencia y un cáliz irregular con lóbulos lanceolados. Los tubérculos se producen a los 3-4 meses bajo condiciones de días cortos y no posee período de dormancia. Se le encuentra en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Norte de Bolivia. Crece a más bajas altitudes que las demás especies cultivadas pero también puede crecer a altitudes mayores. $2n=24$; EBN=2.

***Solanum stenotomum* Juz. et Buk.**

Hojas con pubescencia más densa que *S. phureja*. Cáliz generalmente irregular con lóbulos lanceolados como en *S. phureja*. Los tubérculos se producen en 5-6 meses o más tiempo y con un período de dormancia definido. Se le encuentra en la zona central de Perú y Bolivia, a grandes altitudes(2500-3500 m); $2n=24$; EBN=2.

Solanum goniocalyx

Está considerada como una subespecie de *S. stenotomum*. Se le encuentra principalmente en la zona central de Perú.

Triploides

Todas las formas triploides provienen del cruce natural entre *S. tuberosum subsp. andigena* y *S. stenotomum*.

***Solanum chaucha* Juz. et Buk.**

Se distingue por los lóbulos de la corola que por lo general son tres veces tan anchos como largos cuando se extienden. Se encuentra en el centro de Perú hasta la zona central de Bolivia a grandes altitudes. $2n=36$.

***Solanum juzepczukii* Buk.**

Se distingue por su hábito de semi-roseta, hojas largas y rectas, pedúnculo corto, corola pequeña y azul con lóbulos muy cortos.

Es un híbrido triploide natural entre *S. acaule* y *S. stenotomum*. Se encuentra en el centro de Perú hacia el sur hasta el Sur de Bolivia, a grandes altitudes (3000-4000 m); $2n=36$.

Tetraploides

Solanum tuberosum L.

Se distingue de otras especies cultivadas por la articulación del pedicelo colocado en la media tercia, lóbulos del cáliz corto, hojas ligeramente arqueadas, folíolos siempre ovados a ovo-lanceolados, dos veces más largos que anchas. Lóbulos de la corola la mitad de largo que ancho. Los tubérculos con un período de dormancia bien marcado.

Dos subespecies son reconocidas:

Subespecie *tuberosum*. Originalmente solo de las regiones de costa de la zona sur central de Chile. Los tubérculos se forman bajo días largos o días cortos en los trópicos a solo bajas altitudes (500-2000 m); $2n=48$; EBN=4.

Subespecie *andigena* Hawkes. Se encuentra en los andes de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y noroeste de Argentina. Es indudablemente la subespecie ancestro de *S. tuberosum*. Los tubérculos se forman sólo a grandes altitudes (2500-3500 m) en condiciones de días cortos. $2n=48$; EBN=4.

Pentaploides

Solanum curtilobum Juz. et Buk.

Se distingue por el hábito semi-roseta, hojas rígidas y rectas, corola grande circular y púrpura con lóbulos muy cortos. Se deriva del cruce entre *S. juzepczukii* y *S. tuberosum subsp. andigena*. Se conocen muchas variaciones en el color y forma del tubérculo. Se encuentra en el centro de Perú hasta el sur de Bolivia a grandes altitudes (3000-4000 m); $2n=60$.

I.2 MORFOLOGÍA DE LA PAPA

La papa es una planta herbácea. Su sistema radicular es débil, en comparación con otros cultivos, el tipo de sistema radicular varía de delicado y superficial a fibroso y profundo. Las plantas de papa pueden desarrollarse a partir de una semilla,

formando una delicada raíz axomorfa, o a partir de un tubérculo, formando raíces adventicias primero en la base de cada brote y luego encima de los nudos en la parte subterránea de cada tallo. El sistema de tallos de la papa consta de tallos verdaderos y tallos modificados: estolones y tubérculos. A menudo, en las márgenes angulares de los tallos aéreos se forman alas o costillas, que pueden ser rectas, onduladas o dentadas. El tallo es generalmente verde. Los estolones son tallos laterales que crecen horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas de la parte subterránea de los tallos; los estolones pueden formar tubérculos mediante un agrandamiento de su extremo terminal. Los tubérculos son tallos modificados y constituyen los principales órganos de almacenamiento de la planta de papa. Un tubérculo tiene dos extremos: el basal, o extremo ligado al estolón, que se llama talón, y el extremo opuesto, que se llama apical o distal. El tubérculo presenta ojos ubicados en las cejas y cada ojo contiene varias yemas. Los ojos del tubérculo de papa corresponden morfológicamente a los nudos de los tallos; las cejas representan las hojas y las yemas del ojo representan las yemas axilares. En la mayoría de las variedades comerciales, la forma del tubérculo varía entre redonda, ovalada y oblonga (Huamán, 1986).

Se distingue por presentar inflorescencia cimosa con flores actinomorfas, un pedicelo o pedúnculo floral articulado; pelos glandulares o eglandulares; no presenta espinas y generalmente hojas compuestas. La hoja típica de la papa está descrita botánicamente como interrumpidamente imparipinnada, ya que la principal secuencia de foliolo pareados y un foliolo terminal no pareado, está roto o interrumpido por pequeños foliolos secundarios intercalados (Hawkes, J.G., 1992). El fruto es de color verde y se le da el nombre común de “baya” o “cambul”(Christiansen, 1967). El número de semillas llega a más de 200 y son planas, ovaladas y pequeñas (Huamán, 1986).

I.3 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE PAPA

La papa es el cuarto cultivo de mayor producción a nivel mundial y el segundo en el Perú (FAOSTAT, 2004). La papa es considerada un cultivo muy importante debido a su uso en el ámbito mundial tanto en la alimentación como en la industria. Debido a esto es importante la conservación de sus recursos genéticos para su posterior uso en trabajos de investigación y de mejoramiento de cultivo.

I.4 FORMACIÓN DEL TUBERCULO DE PAPA

La formación del tubérculo es un proceso que involucra cambios a nivel celular, bioquímico y genético. Se inicia con el crecimiento radial del extremo del estolón y simultáneamente ocurren alargamientos tangenciales y divisiones celulares radiales en las regiones cortical, perimedular y vascular de las células; finalmente estas células corticales almacenan almidón conformando finalmente el característico órgano de almacenamiento (Hayward, 1938). La formación de tubérculos en papas es un fenómeno complejo, que envuelve varios pasos consecutivos: inducción e iniciación del estolón, crecimiento del estolón, inhibición del crecimiento del estolón, inducción e iniciación del tubérculo (Wiltshire y Cobb, 1996).

I.4.1 Factores inductores de la formación del tubérculo de papa

Se conocen diversos factores que influyen en la tuberización de papa, éstos son: el genotipo de la planta, los factores físicos o ambientales como fotoperíodo y temperatura, los factores internos de regulación como los factores hormonales y genéticos, y el metabolismo de carbohidratos e influencia del nitrógeno. La inducción de la tuberización ocurre a bajas temperaturas y se inhibe a altas temperaturas; esto se debe a que la tasa respiratoria se incrementa con la reducción de carbohidratos para el crecimiento del tubérculo. En general la temperatura óptima para la inducción es entre 14 y 20°C (Venner, 1993). En términos generales, se considera que la inducción de la tuberización es promovida por fotoperíodos cortos, mientras que el fotoperíodo largos la inhiben o la demoran. Sin embargo, el fotoperíodo requerido para iniciar la tuberización de un cultivar, varía con la especie y también con el cultivar. *Solanum tuberosum subsp. andigena* y la mayoría de las otras especies sudamericanas (*S. stenotomum*, *S. juzepczukii*, *S. chaucha*, *S. curtilobum*, *S. goniocalyx*) tuberizan bajo un fotoperíodo corto; mientras que *S. tuberosum subsp. tuberosum* el cual está adaptado a latitudes más altas requiere fotoperíodos más largos (Ewing, 1992; Venner, 1993). Además, el fotoperíodo puede determinar el número, peso fresco y el tipo de tubérculos, así como en el número de ojos o yemas (Cornejo, 1983; Seabrook et al. 1993; Gopal, 1998). Se ha encontrado que bajo condiciones de oscuridad completa la producción de microtubérculos se incrementa además de que el tiempo de inducción se reduce (Cornejo, 1983; Cheng y Zhang, 1989; Borda, 2000). La

tuberización *in vitro* de papa viene siendo estudiada desde el año 1963 (Lawrence y Baker, 1963). Desde entonces se han desarrollado estudios sobre los factores involucrados en este proceso, como son: el tipo de medio inductor, los efectos de la inclusión de reguladores de crecimiento, ya sea solos o en combinación, el efecto de la concentración y tipo de la fuente de carbono en el medio inductor, los efectos de la temperatura y el fotoperíodo (Wood, 1990).

I.4.2 Reguladores del crecimiento involucrados en la tuberización

Cada una de las etapas de la formación del tubérculo se encuentra regulada por la interacción de varias hormonas como son las giberelinas, citoquininas, auxinas, ácido abscísico, y etileno (Wiltshire y Cobb, 1996; Vreugdenhil y Sergeeva, 1999). Las giberelinas promueven la elongación del estolón inhibiendo la tuberización cuando se ha aplicado exógenamente (Koda y Okasawa, 1983; Hussey y Stacey, 1984; Vreugdenhil y Sergeeva, 1999). Los niveles endógenos de las giberelinas aumentan durante la formación del estolón y disminuyen durante el comienzo de formación del tubérculo (Vreugdenhil y Sergeeva, 1999), sugiriendo que existe un balance hormonal importante durante este proceso. Las citoquininas son consideradas como sustancias inductoras de la tuberización por ser requeridas para la división celular; inhiben la elongación del ápice y de las regiones subapicales del estolón, promoviendo el alargamiento celular. Las citoquininas son sustancias requeridas para la síntesis y acumulación de almidón en el tubérculo (Palmer y Smith, 1970; Wood, 1990). Entre las citoquininas más utilizadas en la inducción de tubérculos de papa se encuentra el 6-bencil amino purina (BAP), juntamente con el inhibidor CCC ha mostrado ser altamente eficiente para incrementar el número de tubérculos producidos y su peso fresco promedio (Cornejo, 1983; Estrada, 1986).

Al contrario de las giberelinas, el ácido abscísico promueve la formación del tubérculo, probablemente mediante la inhibición de el crecimiento de las yemas axilares (Wareing y Jennings, 1979). Esto ha sido comprobado agregando ácido abscísico exógenamente a plantas cuya tuberización había sido inhibida por giberelinas, observándose la recuperación de esa capacidad (Koda y Okasawa, 1983); en condiciones inductoras se observó un incremento del número de tubérculos *in vitro* (Xu et al., 1998). El etileno tiene forma gaseosa, por eso para medir su efecto en condiciones *in vitro* se usa el regulador ácido 2-cloroetil fosfónico (CEPA), el cual es

absorbido por las plantas y produce etileno en sus tejidos (Warner y Leopold, 1969; Yang, 1969). Se ha usado CEPA para medir el efecto en la tuberización encontrándose discordancia entre los resultados; García-Torres y Gómez-Campo (1973) encontraron que incrementaba el número de microtubérculos mientras que Koda y Okasawa (1983) no observaron un efecto positivo sobre la tuberización. Esta discordancia se debe a la dualidad que presenta el etileno, estimula la tuberización mediante la inhibición de la elongación del estolón, e inhibe la inducción de tubérculos, lo que depende de la concentración exógena (Rylski et al., 1974).

A pesar de la importancia de todos estos reguladores del crecimiento hay que tener en cuenta que interactúan con las condiciones ambientales sobre la tuberización. Se ha encontrado que estos factores actúan mediante la regulación de la concentración endógena hormonal, especialmente de giberelinas y ácido abscísico (Krauss, 1985).

I.4.3 Otros compuestos involucrados en la tuberización *in vitro*.

Retardantes del crecimiento como el cloruro de clorocolina (CCC), han mostrado ser efectivos en la inducción de la tuberización *in vitro* de papa. Este efecto se debe a la acción del CCC como inhibidor de las giberelinas, promoviendo así la tuberización. El medio de inducción de microtubérculos usado en el CIP contiene 500 mg/l de CCC y éste ha sido usado satisfactoriamente para la producción de microtubérculos en un amplio rango de genotipos de papa (Estrada, 1986). Cumarina y los ácidos fenólicos también promueven la tuberización *in vitro*, inhibiendo la acción de las giberelinas (Ewing, 1992)

Otro compuesto conocido como inductor de tuberización es el ácido jasmónico cuyo compuesto activo es el denominado ácido tuberónico, el cual se sintetiza en las hojas.

I.5 DORMANCIA DEL TUBÉRCULO

I.5.1 Concepto de dormancia

La Asociación Europea de Investigación en Papa (EAPR) decidió en 1974 proponer los siguientes términos (Burton, 1992):

Dormancia: Estado fisiológico del tubérculo en el cual el crecimiento del brote no ocurre, aún bajo condiciones ideales para el brotamiento (oscuridad, temperatura 15-20°C, HR 90%).

Período de Dormancia: En la literatura citada, se encuentran ocasionalmente las siguientes distinciones:

Período de Reposo: período en el cual no hay un crecimiento cuantificable en ninguna yema del tubérculo al ser almacenado en condiciones ideales para el brotamiento.

Período Dormante: tiempo, luego del período de reposo, en el cual las condiciones ambientales pueden inhibir el crecimiento en cualquier yema. El término del período dormante ocurre cuando el 80% de los tubérculos tienen brotes de al menos 3 mm de longitud.

El inicio del período de dormancia no está del todo esclarecido; por conveniencia se cuenta desde el momento de la cosecha, también se ha mencionado que la fecha de la cosecha no tiene importancia fisiológica por lo que el inicio del período de dormancia comenzaría en el mismo momento del inicio de la tuberización; basado en esto, un tratamiento de supresión del brotamiento sería mucho más efectivo al inicio del tubérculo (van Es, A. y Hartmans, K., 1981). Además, el tiempo del período de dormancia varía con la variedad y la madurez del tubérculo, y también con las condiciones ambientales de almacenamiento de los tubérculos (van Es, A. y Hartmans, K., 1981).

I.5.2 Balance hormonal en la dormancia del tubérculo de papa

El período de dormancia se encuentra también bajo control hormonal, dado por el balance entre promotores del brotamiento como las giberelinas y los inhibidores como son el ácido abscísico y el etileno (Sorce et al., 1996). Se ha reportado que existe una relación entre la concentración de ABA y el mantenimiento y término de la dormancia. Se han encontrado altas concentraciones endógenas de ABA durante el período de dormancia, mientras que al iniciar el brotamiento, esta concentración

disminuye rápidamente, incrementándose la concentración de productos del catabolismo del ABA (Suttle y Hultstrand, 1994; Leclerc et al., 1995; Sorce et al., 1996; Xu et al., 1998). También ha sido reportado que el ABA inhibe el crecimiento de las yemas de papa en condiciones de campo (Burton, 1992), ya que al ser aplicado exógenamente al medio de inducción, podría prolongar el período de dormancia de las yemas de microtubérculos formados. El etileno activa el proceso de rompimiento de la dormancia del tubérculo de papa posiblemente promoviendo la producción de inhibidores fenólicos (Cvikrova et al., 1994). Sin embargo, el efecto del etileno sobre la dormancia en condiciones *in vitro* utilizando CEPA, aún no se ha investigado.

Además de los reguladores hormonales, otros compuestos también varían sus niveles endógenos durante la tuberización y la dormancia; entre ellos, los ácidos fenólicos presentan una concentración elevada durante el período de dormancia y alcanzan su máxima concentración al romperse la dormancia. De estos ácidos fenólicos el que se ha encontrado en mayor concentración fue el ácido cafeico. Por este motivo se ha propuesto que el ácido cafeico estaría involucrado en el control de la dormancia y el brotamiento en los tubérculos de papa (Cvikrova et al., 1994).

I.5.3 Factores que afectan el período de dormancia

La duración de la dormancia depende del cultivar, la madurez del tubérculo y el suelo y condiciones climáticas durante el crecimiento. Además, daños en el tubérculo y el régimen de almacenamiento son también factores importantes (Burton, 1992). El período de dormancia puede ser regulado mediante el control de la temperatura, tratamiento con químicos y, en el caso de semillas de papa, por exposición a la luz (Wiltshire, J. y Cobb, A., 1996). El brotamiento generalmente se incrementa con la temperatura (Wiltshire, J. y Cobb, A., 1996) y bajo condiciones extremadamente frías el período de dormancia se incrementa en 4 semanas (Burton, 1992). En el caso de microtubérculos de papa, se ha reportado que la oscuridad completa y una temperatura de 4°C conservan frescos y sin brotamiento; mientras que a 20°C y oscuridad, hay mayor brotamiento y aún más cuando se utiliza luz difusa a 20°C (Cornejo, 1983). También se ha sugerido que el fotoperíodo para la inducción de los microtubérculos muestra un efecto sobre el brotamiento; asimismo, microtubérculos producidos en un fotoperíodo de 8 horas, presentaron brotamiento precoz en comparación de aquellos producidos bajo condiciones de oscuridad

completa (Cornejo, 1983; Borda, 2000). La humedad, en interacción con la temperatura, también tiene un efecto sobre el rompimiento de la dormancia del tubérculo de papa. A la humedad relativa alta, en ciertas temperaturas de almacenamiento, puede reducir el período de dormancia (Burton, 1963). En el caso de cultivo *in vitro*, es necesario mantener una humedad relativa alta para que los microtubérculos no se deshidraten y puedan conservarse por largo tiempo.

I.6 TÉCNICAS DE CULTIVO DE TEJIDOS PARA LA CONSERVACIÓN DEL GERMOPLASMA DE PAPA

La conservación *in vitro* ofrece algunas ventajas sobre otros sistemas de conservación, como por ejemplo no hay efecto del ambiente o de patógenos sobre las plantas; adicionalmente mediante las técnicas de cultivo de tejidos puede obtenerse material vegetal libre de patógenos (hongos, bacterias ó virus) para ser utilizado por los investigadores y fitomejoradores; también permite que el material pueda ser rápidamente micropropagado para su exportación (Schilde-Rentschler y Roca, 1987; Dodds, 1988, Espinoza et al. 1986, 1992).

En el Centro Internacional de la Papa (CIP) la micropropagación de papa se realiza usando dos métodos, el cultivo en medio semi-sólido y en medio líquido, bajo las siguientes condiciones: 18-22°C, 16 horas luz bajo 3000 lux ($45\text{uE/m}^2/\text{seg}^2$) y 60-70% humedad relativa (Espinoza et al., 1992).

Numerosos bancos de germoplasma de papa utilizan estresantes osmóticos para la conservación *in vitro* a mediano plazo, entre estos, el sorbitol y manitol (Wescott, 1981b; Golmirzaie y Toledo, 1998); sin embargo el sorbitol ya no está siendo utilizado en el banco del CIP debido a que Harding (1991) encontró que podría causar mutaciones.

Otro sistema de conservación *in vitro* propuesto es el uso de microtubérculos (Schilde-Rentschler y Roca, 1987; Golmirzaie y Toledo, 1998; Mix-Wagner, 1999). Estos pueden ser usados como explantes en un medio de conservación (Kwiatkowsky et al., 1988) o almacenados a 4°C sin requerimiento de medio de cultivo (Altoveros et

al., 1996). Además, estos microtubérculos por su pequeño tamaño y por ser producidos bajo condiciones estériles, resultan una opción interesante para la distribución de germoplasma y la producción de semilla de papa (Espinoza et al., 1986).

II. MATERIALES Y METODOS

II.1 MATERIALES

II.1.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Complejo de Biodiversidad del Centro Internacional de la Papa (CIP), La Molina, Lima-Perú.

II.1.2 Material

Se seleccionaron 10 genotipos del banco de germoplasma del CIP que reportaban diferente duración de dormancia (de 0 a 210 días), pertenecientes a 7 especies de papa cultivada; de esta manera cubre un amplio rango de diversidad genética y todo el rango de dormancia presente en el banco de germoplasma de papas cultivadas. Los genotipos escogidos se encuentran libres de bacterias y virus.

Nombre cultivar	Especie	Origen	Días de dormancia	CIPNUMBER	Estatus sanitario ¹
1. Desconocido	<i>S. phureja</i>	Colombia	0	705160	HS0
2. Desconocido	<i>S. phureja</i>	Colombia	0	705177	HS0
3. Ccoe Obispo	<i>S. chaucha</i>	Perú	60	703302	HS2
4. Talon Seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	Perú	60	700961	HS1
5. Papa Blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	Chile	120	703614	HS2
6. Piñaza	<i>S. juzepczukii</i>	Perú	120	702445	HS2
7. Lucki Morada	<i>S. curtilobum</i>	Bolivia	180	702615	HS1
8. Zapallo	<i>S. goniocalyx</i>	Bolivia	180	703244	HS2
9. Malcachu	<i>S. stenotomum</i>	Bolivia	210	702527	HS1
10. Palqui	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	Bolivia	210	704093	HS0

¹ HS0: limpio de bacteria, y virus PSTV y PVT; HS1: igual que HS0 además limpio de PVX y PVY (prueba de Elisa y NASH); HS2: igual que HS1, más verificación de rango de huéspedes.

II.1.3 Reguladores de Crecimiento

Se seleccionaron 3 compuestos involucrados en la regulación de la tuberización y la dormancia del tubérculo de papa: ácido abscísico (ABA) (Xu et al., 1998), etileno (García-Torres y García-Campo, 1973; Cvikrova et al., 1994), y ácido cafeico (Cvikrova et al., 1994). El etileno se obtiene usando el ácido 2-cloroetil fosfónico (CEPA), el cual es absorbido por las plantas produciendo etileno en sus tejidos (Warner y Leopold, 1969; Yang, 1969).

Se procedió a realizar una prueba de toxicidad previa para determinar las concentraciones finales de CEPA y ácido cafeico, debido a que no se encontró referencia útil sobre su uso en medios de cultivo. Se evaluó la toxicidad de 7 concentraciones de CEPA (0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5 y 5 mg/L) y 7 concentraciones de ácido cafeico (0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 y 30 mg/L) usando 3 genotipos de papa: CIP 703614 *S. tuberosum subsp. tuberosum*, CIP 705166 *S. phureja* y CIP 702445 *S. juzepczukii*, durante 30 días de cultivo, bajo dos condiciones de iluminación: 16 horas luz y oscuridad continua.

Se determinó utilizar 3 concentraciones de CEPA en el experimento de tuberización (0.05, 0.1 y 0.25 mg/L), dado que a mayor concentración resultó tóxico para la papa *in vitro*. Así mismo, se determinó utilizar 3 concentraciones de ácido cafeico (5, 10 y 15 mg/L), dado que a menor concentración no se observó efecto alguno, y a mayor concentración se observó un oscurecimiento de las raíces que no afectó el crecimiento de las plántulas *in vitro* de papa, a los 30 días.

II.1.4 Insumos de Laboratorio

II.1.4.1 Equipo

Autoclave de alta capacidad (Consolidated Steromaster MK-II)

Potenciómetro (Corning pHmeter-125)

Agitadores Gyrotory Shaker Modelo G-2 y Fisher Scientific

Balanza analítica Metler modelo AE 163

Balanza Metler modelo Toledo

Cámara de Flujo Laminar (EACI Enviroco)
Refrigeradora Fisher Scientific 6150
Horno de secado Forma-Quick Dry
Horno esterilizador Forma-Scientific 6150
Horno microondas Samsung
Dispensador digital Wheaton Science Products

II.1.4.2 Reactivos

Murashige and Skoog Minimal Organics Medium GIBCOBRL (4.6 g/ l)
Stock de vitaminas (glicina, ácido nicotínico, piridoxina, tiamina HCl)
Sucrosa SIGMA ®
Sorbitol SIGMA ®
Phytigel TM SIGMA ®
Ácido Abscísico (ABA) SIGMA ®
Ácido 2-cloroetil fosfónico (CEPA) 1 g. SIGMA ®
Ácido cafeico SIGMA ®
6-Bencil amino purina (BAP) SIGMA ®
Cloruro de clorocolina (CCC) SIGMA ®
Sulfato de Magnesio penta hidratado $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Alcohol, agua destilada, hipoclorito de sodio

II.1.4.3 Material de vidrio y otros

Envases de plástico esterilizables Magentas GA-7, 3"x3"x4" Magenta Corp.
Tubos 18 mm diámetro
Placas petri tamaño estándar descartables (100x15mm) Fisherbrand®
Bandejas de plástico (46x30cm)
Papel filtro
Micropipetas de 20,100, 200 y 1000 μL Wilson®
Tips de 100 y 1000 μL

Filtros Millipore 0.22µm MILLEX®-GS
Dispensador mecánico de medio de cultivo
Botellas esterilizables 1L, 500mL, 250 mL
Termómetro
Pinzas y mango de bisturí
Hojas de bisturí No 11 Feather Safety Razor Co., Ltd.
Hojas de bisturí No 10 Global Steel

II.2 MÉTODOS

II.2.1 Propagación de plántulas *in vitro*

Las 10 accesiones de papa seleccionadas fueron propagadas en un medio alternativo de propagación (MAP) que ayudó a recuperar rápidamente las plántulas después de haber estado conservadas bajo estrés osmótico durante aproximadamente 2 años. Este medio contiene el medio basal MS (sales Murashige y Skoog, 1962) suplementado con sucrosa 25 g/L, glicina 2 mg/L, ácido nicotínico 0.5 mg/L, piridoxina 0.5 mg/L, tiamina HCl 0.4 mg/L, arginina 4 mg/L, pantotenato de Ca 2 mg/L, putrescina 10 mg/L y agua de coco 10 ml/L, pH 5.8. Se cultivaron 10-12 segmentos nodales de 3 nudos cada uno, en frascos plásticos esterilizables Magenta conteniendo el medio MAP líquido, en un agitador bajo una temperatura de 18-21°C y 16 horas de 3,000 lux de iluminación.

Después de 15 días de cultivo en el medio MAP, a partir de cada segmento nodal se obtuvieron 1 a 3 plántulas de 3 a 4 nudos cada una. Estas plántulas fueron utilizadas para una segunda propagación en el medio de propagación MSA sólido.

Para la propagación se utilizó 20 segmentos nodales de 2 yemas cada uno, en cada frasco Magenta, conteniendo el medio MSA. El medio MSA está conformado por sales MS (sales Murashige y Skoog, 1962) suplementado con sucrosa 25 g/L, glicina 2 mg/L, ácido nicotínico 0.5 mg/L, piridoxina 0.5 mg/L, tiamina HCl 0.4 mg/L y phytagel 3 g/L. Los cultivos se incubaron a 18-21°C, 70% humedad relativa y 16 horas de 3000 lux de iluminación.

II.2.2 Inducción de microtubérculos

II.2.2.1 Preparación de medios de inducción

Se prepararon 11 medios de inducción de tuberización.

Se utilizaron 2 medios controles: (i) el medio basal compuesto de las sales basales de MS suplementado con 2 mg/l glicina, 0.5 mg/l ácido nicotínico, 0.5 mg/l piridoxina, 0.4 mg/l tiamina HCl, 80 g/l sucrosa, 3 g/l phytigel, pH 5.6 (llamado medio Suc 8%); (ii) el medio basal arriba descrito más 5 mg/l BAP y 500 mg/l CCC (llamado BAP/CCC).

Los 9 medios restantes estuvieron conformados por el medio basal suplementado con: ABA 5 uM, ABA 10 uM, ABA 15 uM, CEPA 0.05 mg/l, CEPA 0.1 mg/l, CEPA 0.25 mg/l, ácido cafeico 5 mg/l, ácido cafeico 10 mg/l y ácido cafeico 15 mg/l. Estos compuestos fueron esterilizados en frío usando filtros “milipore” de 0.22 µm, luego añadidos al medio estéril antes de dispensarse en cajas Magenta.

II.2.2.2 Cultivo en medios de inducción

Luego de 4 semanas de crecimiento en el medio de propagación, los segmentos de nudos obtenidos de las plántulas fueron inoculados en 11 diferentes medios inductores de tuberización, se usaron 10 nudos por caja magenta.

Se usaron 8 magentas por medio inductor (80 nudos por tratamiento) y por cada genotipo. La inoculación se realizó bajo condiciones de esterilidad en una cámara de flujo laminar. Las magentas fueron etiquetadas y selladas con cinta Saran Wrap para evitar la contaminación durante el tiempo de inducción de tuberización, luego fueron llevadas a condiciones de oscuridad continua y temperatura de 18-21°C por 120 días.

II.2.2.3 “Cosecha” de microtubérculos

Al término de formación de la tuberización, es decir, cuando la producción de microtubérculos cesó y ocurrió el rompimiento de la dormancia de los microtubérculos en las cajas magentas, se procedió a su “cosecha”. Dependiendo del

genotipo, esto ocurrió entre 105-135 días. Después de ser extraídos de las cajas magenta, los microtubérculos fueron separados mediante cortes a la altura de la unión del microtubérculo al punto distal del estolón.

II.2.3 Instalación del experimento de dormancia

Luego de “cosechados”, los microtubérculos se pasaron a placas petri esterilizadas (100x15mm) y selladas con “Parafilm”[®], éstas a su vez fueron colocadas en bandejas de plástico (46x30cm) desinfectadas previamente con hipoclorito de sodio. Los microtubérculos fueron almacenados de esta manera en dos ambientes de temperatura diferente: el cuarto de conservación de papa, de 6° a 10°C, y el cuarto de propagación de papa, de 18° a 21°C. En ambos ambientes los microtubérculos se mantuvieron bajo condiciones de oscuridad continua. Se agregó 500 ml de una solución esterilizada de sulfato de magnesio al 10% a las bandejas con el propósito de mantener una alta humedad relativa constante, y así evitar la deshidratación de los microtubérculos.

Se usaron 5 microtubérculos de tamaño homogéneo por placa petri, y con dos repeticiones por genotipo y tratamiento.

II.2.4 Uso de microtubérculos como propágulos para la conservación

II.2.4.1 Preparación del medio de conservación *in vitro*

Se utilizó el medio de conservación rutinario del CIP: sales Murashige y Skoog (1962), glicina 2 mg/L, ácido nicotínico 0.5 mg/L, Tiamina HCl 0.4 mg/L, sucrosa 20g/L, sorbitol 30g/L y phytagel 3 g/L, pH 5.6. Este medio fue dispensado en tubos de 18 mm de diámetro x 150 mm de longitud.

II.2.4.2 Inoculación en el medio de conservación

Los microtubérculos “cosechados” fueron inoculados en el medio de conservación, embebiéndolos hasta la mitad en el medio y con la parte apical del tubérculo hacia arriba. Los tubos fueron colocados en el cuarto de propagación de papa a una temperatura entre 18-21°C, y un fotoperíodo de 16 horas luz con 3,000 lux

de iluminación hasta el brotamiento. Luego se transfirieron al cuarto de conservación de papa a una temperatura de 6-10°C, fotoperíodo de 16 horas luz y 2000 lux de iluminación.

Se utilizaron seis tubos conteniendo un microtubérculo por cada genotipo y tratamiento. Como control se usaron segmentos nodales provenientes de plántulas crecidas en medio de propagación, (3 nudos por tubo con el medio de conservación). Estos segmentos nodales fueron incubados bajo las mismas condiciones que los microtubérculos.

II.2.5 Evaluaciones

II.2.5.1 Inducción de microtubérculos

Las evaluaciones se realizaron cada 15 días después de la inoculación en los medios inductores hasta la “cosecha”. Se determinó la curva de producción de microtubérculos, con el día de inicio y el día de término de la tuberización.

Se evaluó también el número de microtubérculos producido por caja magenta, el peso total de microtubérculos por caja magenta, el peso promedio de los microtubérculos, el diámetro promedio de los microtubérculos y el número de yemas por microtubérculo (promedio de los 5 microtubérculos más grandes por magenta).

II.2.5.2 Dormancia del microtubérculo

El período de dormancia se calculó de dos maneras:

- Período de Dormancia I: número de días desde el inicio de la microtuberización hasta el inicio de la brotación.
- Período de Dormancia II: número de días desde la “cosecha” hasta el brotamiento del 50% de los microtubérculos.

La brotación de los microtubérculos almacenados en las placas petri se evaluó semanalmente hasta obtener el 50% de microtubérculos brotados.

II.2.5.3 Conservación *in vitro* usando microtubérculos

Se evaluó el porcentaje de brotamiento, formación de raíz y/o yemas a los 30 días de subcultivo en el medio de conservación. Cada 3 meses se evaluó el crecimiento de las plántulas provenientes de los microtubérculos en una escala visual del 1 al 5 (donde 1 significa muy poco crecimiento; 2, poco; 3, crecimiento medio; 4, alto; 5, muy alto crecimiento).

A los 6 meses se evaluó el porcentaje de sobrevivencia. Otras observaciones anotadas fueron formación de callo, microtuberización y raíces aéreas.

II.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para este estudio se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial de 11 medios de inducción (Sucrosa 8%, BAP/CCC, ABA 5uM, ABA 10 uM, ABA 15 uM, CEPA 0.05 mg/l, CEPA 0.1 mg/l, CEPA 0.25 mg/l, ácido cafeico 5 mg/l, ácido cafeico 10 mg/l, ácido cafeico 15 mg/l) x 10 genotipos de papa. El número de repeticiones fue 8 por cada tratamiento.

Cada genotipo fue analizado independiente. Los datos de número de tubérculos fueron transformados en raíz cuadrada de $(x+5)$ y luego se utilizó un análisis estadístico de varianza (Barlett) y pruebas de comparación de medias de Waller y Duncan ($\alpha=0.05$).

Para las variables inicio de microtuberización (días), dormancia I (días) y peso total de microtubérculos por magenta, se utilizó un análisis estadístico de varianza y pruebas de comparación de medias de Waller y Duncan ($\alpha=0.05$).

Para el análisis de las evaluaciones del crecimiento en el medio de conservación se utilizó un Análisis de Varianza por rangos de Friedman.

II.3.1 Diseño Experimental

Para la evaluación de las variables: inicio de microtuberización (días), número de microtubérculos, peso de microtubérculos y dormancia I (días), se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA) con un Modelo del Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial (11x10) con 8 repeticiones:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

μ = media

α_i = Efecto producido por el genotipo

β_j = Efecto producido por el medio inductor

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto producido por la interacción de genotipo x medio inductor

ε_{ij} = Error estadístico

Para la evaluación de la variable crecimiento de las plántulas en el medio de conservación se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías por rangos de Friedman con un modelo del diseño completamente al azar con 4 repeticiones:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

μ = media

α_i = Efecto producido por el genotipo

B_j = Efecto producido por el medio inductor

ε_{ij} = Error estadístico

III. RESULTADOS

III.1 Inducción y producción de microtubérculos

El análisis de varianza del inicio de la tuberización, número de microtubérculos, peso total por magenta y peso promedio de microtubérculos, mostró que hubo efecto altamente significativo del medio inductor utilizado así como del genotipo. Así mismo también se encontró un efecto significativo de la interacción genotipo x inductor (Tablas 1, 5 y 9).

El inicio de la tuberización en el medio BAP/CCC ocurrió más tempranamente (12 días antes) que el medio control (sucrosa 8%), en el cual se inició la microtuberización a los 45 días. Contrariamente, los medios conteniendo ácido cafeico y CEPA indujeron la producción de microtubérculos 14 a 20 días después del medio control. El ácido abscísico también causó una inducción temprana de la tuberización (47-49 días), pero en este caso, sólo ocurrió el ensanchamiento del extremo distal de los estolones, sin producción de microtubérculos maduros (Tablas 3 y 4).

El genotipo que inició la tuberización más tempranamente correspondió a la especie *S. tuberosum subsp. tuberosum* (cultivar Papa blanca), lo cual coincide con el comportamiento en campo de la subespecie *Tuberosum* en cuanto a precocidad en la formación de tubérculos. Los genotipos pertenecientes a la especie *S. phureja* fueron los siguientes en iniciar la tuberización, seguidos por el genotipo Palqui (*S. tuberosum subsp. andigena*) y Piñaza (*S. juzepczukii*), luego por Ccoe obispo (*S. chaucha*) y el genotipo más tardío fue Talón Seguro perteneciente a *S. tuberosum subsp. andigena*; este último, inició su tuberización a los 94 días (Tabla 2). Cabe observar la gran variabilidad presente en la subespecie *Andigena* en cuanto a su comportamiento en la tuberización *in vitro*, lo cual concuerda con la alta diversidad genética existente en esta subespecie.

Los cultivares Zapallo y Malcachu, pertenecientes a las especies *Solanum goniocalyx* y *Solanum stenotomum*, respectivamente, no produjeron microtubérculos. Sin embargo, pudo observarse que el cultivar Zapallo empezó a tuberizar tardíamente pero sólo con el medio BAP/CCC; estos microtubérculos fueron muy pocos e inmaduros, por lo cual no se tomaron en cuenta para el análisis.

Tabla 1. Análisis de Varianza del inicio de la tuberización de 7 cultivares de papa usando 11 medios de tuberización

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	valor F	Pr>F
Genotipo	6	491.20	82.24	65.59	<.0001
Tratamiento	10	232.30	23.23	19.66	<.0001
Genotipo*Tratamiento	49	201.38	4.11	3.48	<.0001
Coef. Variación	15.09%				

Tabla 2. Inicio de la tuberización en 7 diferentes cultivares de papa

Cultivar	Especie	Media (días)	Agrupamiento Waller
Talón Seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	90.9	A
Ccoe Obispo	<i>S. chaucha</i>	66.0	B
Piñaza	<i>S. juzepczukii</i>	54.7	C
Desconocido (CIP 705177)	<i>S. phureja</i>	52.5	C
Palqui	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	52.3	C
Desconocido (CIP 705160)	<i>S. phureja</i>	39.6	D
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	34.5	E
LSD	0,4039		

Tabla 3. Efecto de los medios de inducción sobre el inicio de la tuberización de 7 cultivares de papa

Medio Inductor	Media (días)	Agrupamiento Waller
Ácido cafeico 10 mg/L	67.6	A
CEPA 0.25 mg/l	61.1	AB
Ácido cafeico 5 mg/L	57.2	B
CEPA 0.05 mg/l	57.1	B
CEPA 0.1 mg/l	56.9	B
ABA 15uM	54.4	BC
Ácido cafeico 15 mg/l	49.6	CD
ABA 10 Um	47.7	D
ABA 5 uM	47.2	D
Sucrosa 8%	41.2	E
BAP/CCC	33.2	F
LSD	0.442	

Tabla 4. Efecto de diferentes medios de tuberización sobre el tiempo de inducción (días) de 7 cultivares de papa

Cultivar / Medio inductor	Palqui <i>S. tuberosum</i> subsp. andigena	Talón Seguro <i>S. tuberosum</i> subsp. andigena	Papa Blanca <i>S. tuberosum</i> subsp. tuberosum	Piñaza <i>S. juzepczukii</i>	Desconocido <i>S. phureja</i>	Desconocido <i>S. phureja</i>	Ccoe Obispo <i>S. chaucha</i>
Suc 8%	45.9bc	106.5b	26.2ef	36.2f	49.3cd	19.5f	---
BAP/CCC	42.9c	40.2e	22.1f	30f	37.5e	27.7ef	33.8c
CE 0.05 mg/l	55.3abc	82.8cd	38.8a	65.5bc	61.4ab	42.3bcde	---
CE 0.1 mg/l	62.8ab	117.2ab	36.9ab	63.9bcd	49.9cd	31.8cdef	---
CE 0.25 mg/l	49.9abc	132.4a	29.2de	77.8a	55.6bc	56.3ab	---
ABA 5 uM	47.8abc	---	34.9abcd	55.7cde	55*	45.4bcd	---
ABA 10 uM	53.3abc	---	36.1abc	57.7bcd	47.8d	41.2bcde	---
ABA 15 uM	63.6a	---	30.7 *	58.5bcd	48.6cd	47.7abc	---
CA 5 mg/l	55.0abc	121.7ab	31.8bcde	54.2de	64.8a	30.0def	79.8b
CA 10 mg/l	58.5abc	101.4bc	30.4cde	68.2ab	53.1cd	68.2a	116.2a
CA 15 mg/l	48.6abc	64.3d	35.3abcd	47.9e	64.9a	47.9abc	---
<i>p</i> (Anova)	<i>p</i> =0.0502	<i>p</i> <0.0001	<i>p</i> <0.0001	<i>p</i> <0.0001	<i>p</i> <0.0001	<i>p</i> <0.0001	<i>p</i> =0.0001
Coef. Variab.	11.6	11.5	9.7	9.3	6.0	19.0	14.5

Las medias con la misma letra no son diferentes significativamente; (---)= no hay datos

*Este dato no fue considerado en el análisis porque presento una alta varianza

El medio BAP/CCC favoreció significativamente la formación de microtubérculos, produciendo 2.5 veces mayor número de microtubérculos que el control sucrosa 8% (Tabla 6). El efecto de los medios conteniendo ácido cafeico y CEPA sobre el número de microtubérculos producidos no fue significativo (Tabla 6), sin embargo los microtubérculos producidos con CEPA tuvieron un mayor peso total que aquellos producidos con el medio control y los medios con ácido cafeico (Tabla 10).

El tamaño y peso promedio de los microtubérculos obtenidos fueron similares entre los tratamientos BAP/CCC, CEPA y el control, mientras que los producidos con los medios conteniendo ácido cafeico fueron significativamente más pequeños. Como se dijo anteriormente los microtubérculos producidos en los medios con ABA fueron los más pequeños debido a que no llegaron a formar microtubérculos maduros, quedándose sólo como ensanchamiento del extremo distal del estolón. En general, el efecto del ácido abscísico sobre la tuberización en todos los genotipos fue el menor observado (Tablas 10 y 12).

El cultivar Papa Blanca (*S. tuberosum* subsp. *tuberosum*) produjo el mayor número de microtubérculos y los de mayor tamaño también (Fig. 1); el cultivar Piñaza (*Solanum juzepczukii*) produjo un alto número de microtubérculos pero de tamaño pequeño (Fig. 2). Dentro de los dos cultivares pertenecientes a *S. phureja* hubo diferencias, mientras en el cultivar 705160 se observó más alta producción de microtubérculos, el cultivar 705177 tuvo una producción menor, pero éste último presentó tubérculos significativamente más grandes (Fig. 3 y 4). El cultivar Talón Seguro (*S. tuberosum* subsp. *andigena*) produjo un número pequeño de microtubérculos pero de tamaño medio; éste cultivar fue el último en iniciar la tuberización (Fig. 5); los cultivares Ccoe Obispo (*S. chaucha*) y Lucki Morada (*S. curtilobum*) fueron los que produjeron menor número y tamaño de microtubérculos (Tablas 7, 11 y 13; Fig. 6 y 7).

Analizando el efecto de la interacción genotipo por medio de tuberización sobre la producción de microtubérculos, observamos que el medio BAP/CCC tuvo un efecto positivo sobre 5 de los 7 cultivares. Sin embargo en los cultivares pertenecientes a la especie *S. phureja*, fue el medio conteniendo CEPA 0.25 mg/L

(cultivar CIP 705160) y el medio con ácido cafeico 15 mg/l (cultivar CIP 705177) los que produjeron el mayor número de microtubérculos. Así mismo se puede observar que los cultivares Ccoe Obispo y Lucki Morada, respondieron con una significativa producción de microtubérculos (8.1 y 4.3, respectivamente) sólo en el medio BAP/CCC; con los demás medios la producción fue mínima o a casi nula (0-1.3) (Tabla 8).

En cuanto al peso total, el aumento de peso con BAP ocurrió en 4 cultivares, lo cual está relacionado con el número de microtubérculos obtenidos; sin embargo en los genotipos Papa Blanca y CIP 705160 el mayor peso de microtubérculos se obtuvo con CEPA 0.25 mg/l, sugiriendo un efecto significativo sobre el desarrollo de los microtubérculos (Tabla 14).

La “cosecha” se realizó cuando algunos microtubérculos iniciaron la brotación. Sin embargo, cabe señalar que el inicio de la brotación no significó que el proceso de tuberización terminara, siendo así que la formación de microtubérculos continuó hasta los 120-150 días (Figuras 8-12). En muchos casos se observó que los brotes daban origen a microtubérculos secundarios ya sea del tipo sésil, o formando estolones que a su vez volvían a producir microtubérculos.

Tabla 5. Análisis de Varianza del número de microtubérculos obtenidos de 8 cultivares de papa usando 11 medios de tuberización.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	valor F	Pr>F
Genotipo	7	96,98	13,85	42,72	<.0001
Tratamiento	10	105,08	10,51	32,40	<.0001
Genotipo*Tratamiento	66	58,74	0,89	2,74	<.0001
Coef. Variación	41,70%				

Tabla 6. Efecto de los medios de tuberización sobre el número de microtubérculos en 8 cultivares de papa.

Medio Inductor	Media	Agrupamiento Waller
BAP/CCC	4.74	A
CEPA 0.25 mg/l	2.06	B
Sucrosa 8%	1.81	B
CEPA 0.05 mg/l	1.78	B
Ácido cafeico 15 mg/l	1.75	B
Ácido cafeico 5 mg/l	1.72	B
Ácido cafeico 10 mg/l	1.57	B
CEPA 0.1 mg/l	0.99	C
ABA 10 uM	0.31	D
ABA 15 uM	0.27	DE
ABA 5 uM	0	E
LSD	0.1909	

Tabla 7. Número de microtubérculos por magenta obtenidos de 8 cultivares de papa.

Cultivar	Especie	Media	Agrupamiento Waller
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	3.54	A
Pitaza	<i>S. juzepczukii</i>	3.30	A
Desconocido (CIP 705160)	<i>S. phureja</i>	2.03	B
Palqui	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	1.04	C
Desconocido (CIP 705177)	<i>S. phureja</i>	0.8	C
Talon Seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	0.77	C
Ccoe Obispo	<i>S. chaucha</i>	0.69	C
Lucki morada	<i>S. curtilobum</i>	0.22	D
LSD	0,1628		

Tabla 8. Efecto de los medios de inducción sobre el número de microtubérculos producidos en 7 cultivares de papa.

Cultivar / Medio inductor	Talón Seguro <i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	Papa Blanca <i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	Luki Morada <i>S. curtilobum</i>	Piñaza <i>S. juzepczukii</i>	Desconoci do <i>S. phureja</i>	Desconoci do <i>S. phureja</i>	Ccoe Obispo <i>S. chaucha</i>
Suc 8%	1.3b	4.3b	0c	2.6bcd	0.7bc	3.4a	1b
BAP/CCC CE 0.05 mg/l	6.6a	8.2a	4.3a	7.6a	1abc	2.8a	8.1a
CE 0.1 mg/l	0.3cd	4.5b	1.3b	3.4bcd	1.2abc	----	----
CE 0.25 mg/l	0.8bcd	0.8c	0.2c	2.5cd	1abc	2.5a	0.4bcd
CA 5 mg/l	1.4*	4.8b	0.4c	2.4cd	2.6a	----	----
CA 10 mg/l	1.2bc	4.6b	0.2c	5.5ab	0.5bc	3a	0.6bc
CA 15 mg/l	0.7bcd	4.8b	0c	4.2abc	1.3ab	3.3a	0.4bcd
ABA 5 uM	1.1bc	4.8b	0.3c	7.1a	0.5bc	3.4a	0.2cd
ABA 10 uM	0d	1.8c	0c	1.1d	0.8bc	0.2c	0d
ABA 15 uM	0.1d	1.5c	0c	1.5d	0.1c	0*	0d
	0d	0.7c	0c	1.7cd	0.2bc	0*	0d
<i>p</i> (ANOVA)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0001	0.0097	0.0528	<0.0001

Las medias con la misma letra no son diferentes significativamente; (----)= no hay datos

*Este dato no fue considerado en el análisis porque presento una alta varianza

Tabla 9. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis del efecto de los tratamientos y del genotipo en el peso de los microtubérculos.

Fuente de variación	Peso total de microtubérculos	Peso promedio
1. Tratamiento		
Chi-cuadrado	71.783	42.3485
gl	10	10
Pr> Chi-cuadrado	<.0001	<.0001
2. Genotipo		
Chi-cuadrado	64.684	103.9782
gl	6	6
Pr> Chi-cuadrado	<.0001	<.0001

Tabla 10. Efecto de los medios de tuberización sobre el peso total de microtubérculos de 7 cultivares de papa.

Medio Inductor	Media (mg)	Agrupamiento Waller
BAP/CCC	341.90	A
CEPA 0.25 mg/l	263.42	B
CEPA 0.05 mg/l	218.05	BC
Sucrosa 8%	193.60	DC
Ácido cafeico 5 mg/l	174.57	DC
Ácido cafeico 15 mg/l	161.45	DC
Ácido cafeico 10 mg/l	138.78	D
CEPA 0.1 mg/l	69.17	E
ABA 5 uM *	19.73	E
ABA 15 uM *	11.46	E
ABA 10 uM *	9.46	E
LSD	62.033	
* Este peso corresponde a microtubérculos inmaduros (ensanchamiento del extremo distal del estolón)		

Tabla 11. Prueba de comparación múltiple de medias de Waller-Duncan para la variable peso total de microtubérculos de 7 cultivares de papa.

Cultivar	Especie	Media (mg)	Agrupamiento Waller
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	430.91	A
Desconocido CIP 705177	<i>S. phureja</i>	216.32	B
Piñaza	<i>S. juzepczukii</i>	114.72	C
Talon Seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	70.80	CD
Desconocido CIP 705160	<i>S. phureja</i>	68.71	CD
Ccoe Obispo	<i>S. chaucha</i>	64.44	DE
Lucki morada	<i>S. curtilobum</i>	17.28	E
Zapallo	<i>S. goniocalyx</i>	0 ^a	
Malcachu	<i>S. stenotomum</i>	0 ^a	
LSD	48.501		

^a Estos datos no se tomaron para el análisis de Waller-Duncan

Tabla 12. Efecto de los medios de tuberización sobre la variable peso promedio de microtubérculos de 7 cultivares de papa.

Medio Inductor	Media (mg)	Agrupamiento Waller
BAP/CCC	52.463	A
CEPA 0.25 mg/l	50.938	A
CEPA 0.05 mg/l	49.865	A
Sucrosa 8%	48.123	AB
Ácido cafeico 5 mg/l	46.125	AB
Ácido cafeico 15 mg/l	36.655	BC
Ácido cafeico 10 mg/l	33.634	C
CEPA 0.1 mg/l	27.718	C
ABA 5 uM	9.062	D
ABA 15 uM	5.901	D
ABA 10 uM	5.292	D
LSD	12.039	

* Este peso corresponde a microtubérculos inmaduros (ensanchamiento del extremo distal del estolón)

Tabla 13. Prueba de comparación múltiple de medias de Waller-Duncan para la variable peso promedio de microtubérculos de 7 cultivares de papa.

Cultivar	Especie	Media (mg)	Agrupamiento Waller
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	83.206	A
Desconocido CIP 705177	<i>S. phureja</i>	50.031	B
Desconocido CIP 705160	<i>S. phureja</i>	28.315	C
Piñaza	<i>S. juzepczukii</i>	21.645	CD
Talon Seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	20.155	CD
Ccoe Obispo	<i>S. chaucha</i>	17.439	D
Lucki morada	<i>S. curtilobum</i>	6.108	E
Zapallo	<i>S. goniocalyx</i>	0 ^a	
Malcachu	<i>S. stenotomum</i>	0 ^a	
LSD	9.3558		

^a Estos datos no se tomaron para el análisis de Waller-Duncan

Tabla 14. Efecto de los medios de tuberización sobre el peso total de microtubérculos provenientes de 7 cultivares de papa.

Cultivar / Medio inductor	Talón Seguro <i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	Papa Blanca <i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	Luki Morada <i>S. curtilobum</i>	Piñaza <i>S. juzepczukii</i>	Desconoci do <i>S. phureja</i>	Desconoci do <i>S. phureja</i>	Ccoe Obispo <i>S. chaucha</i>
Suc 8%	169.8b	452.3b	0	99.1bc	38.3bc	413.7a	91.8b
BAP/CCC CE 0.05 mg/l	352a	850ab	103a	330.5a	123.9ab	237a	371.7a
CE 0.1 mg/l	13*	776.3ab	70.4*	142.9bc	78.4bc	----	----
CE 0.25 mg/l	37b	99*	5.6b	65.8*	70bc	183.6a	21.9c
CA 5 mg/l	88.5b	1007.8a	20.4b	62.8*	219a	----	----
CA 10 mg/l	40.8b	603ab	0	201.2ab	53bc	258.1a	50.8bc
CA 15 mg/l	30.8b	429b	0	125.4bc	74.5bc	280.3a	14.4c
ABA 5 uM	42.4b	566.8ab	12b	208.3ab	36.9bc	355.5a	6.6c
ABA 10 uM	0	80.4*	0	13.8*	36.8bc	0	0
ABA 15 uM	5.3	33.6*	0	18.8*	4.4c	0	0
	0	32.7*	0	27.7*	13c	0	0

Las medias con la misma letra no son diferentes significativamente; (----)= no hay datos

*Este dato no fue considerado en el análisis porque presento una alta varianza

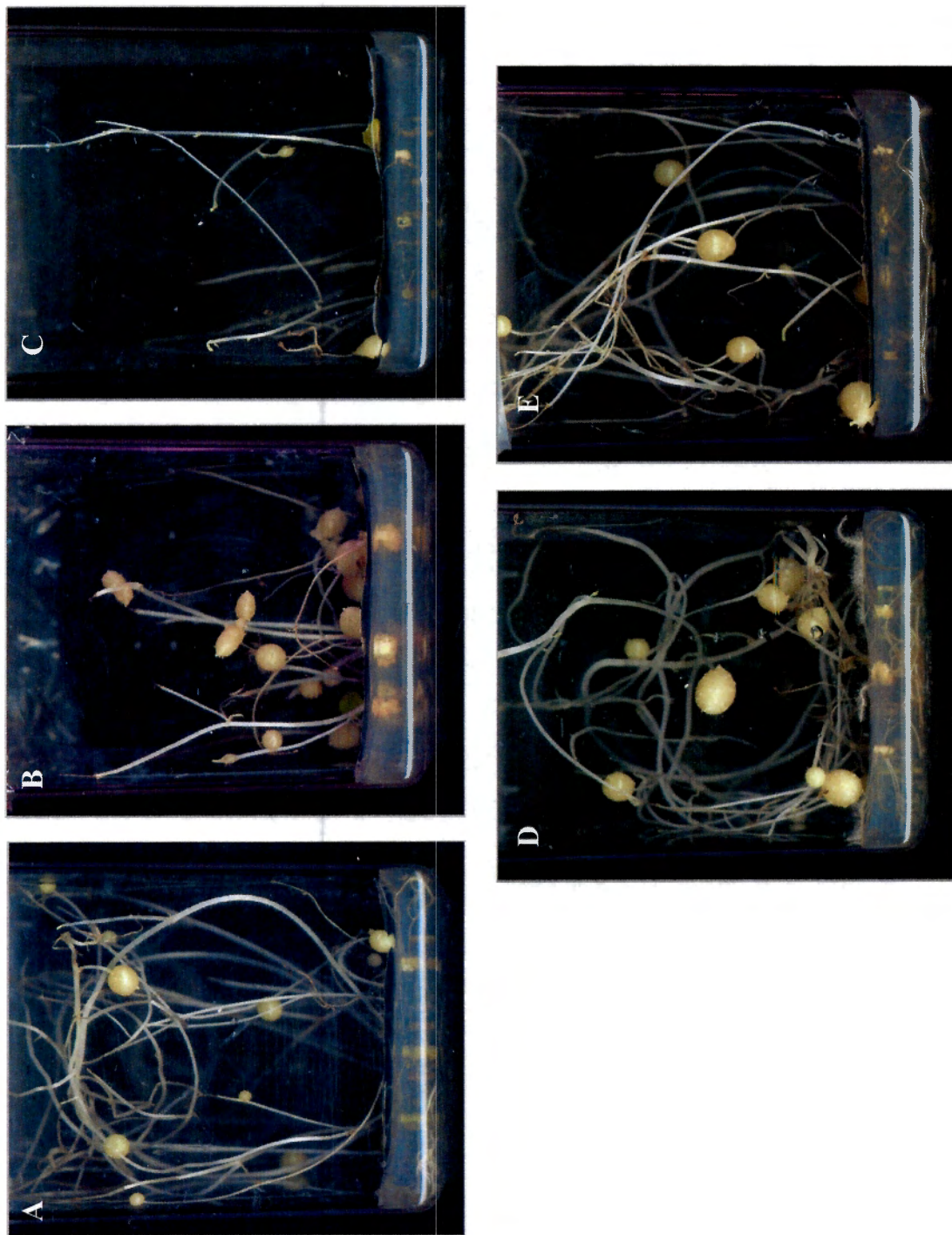


Figura 1. Producción de microtubérculos del genotipo Papa Blanca (*S. tuberosum subsp. tuberosum*) a los 120 días de inducción. A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico; E: ácido Caféico.

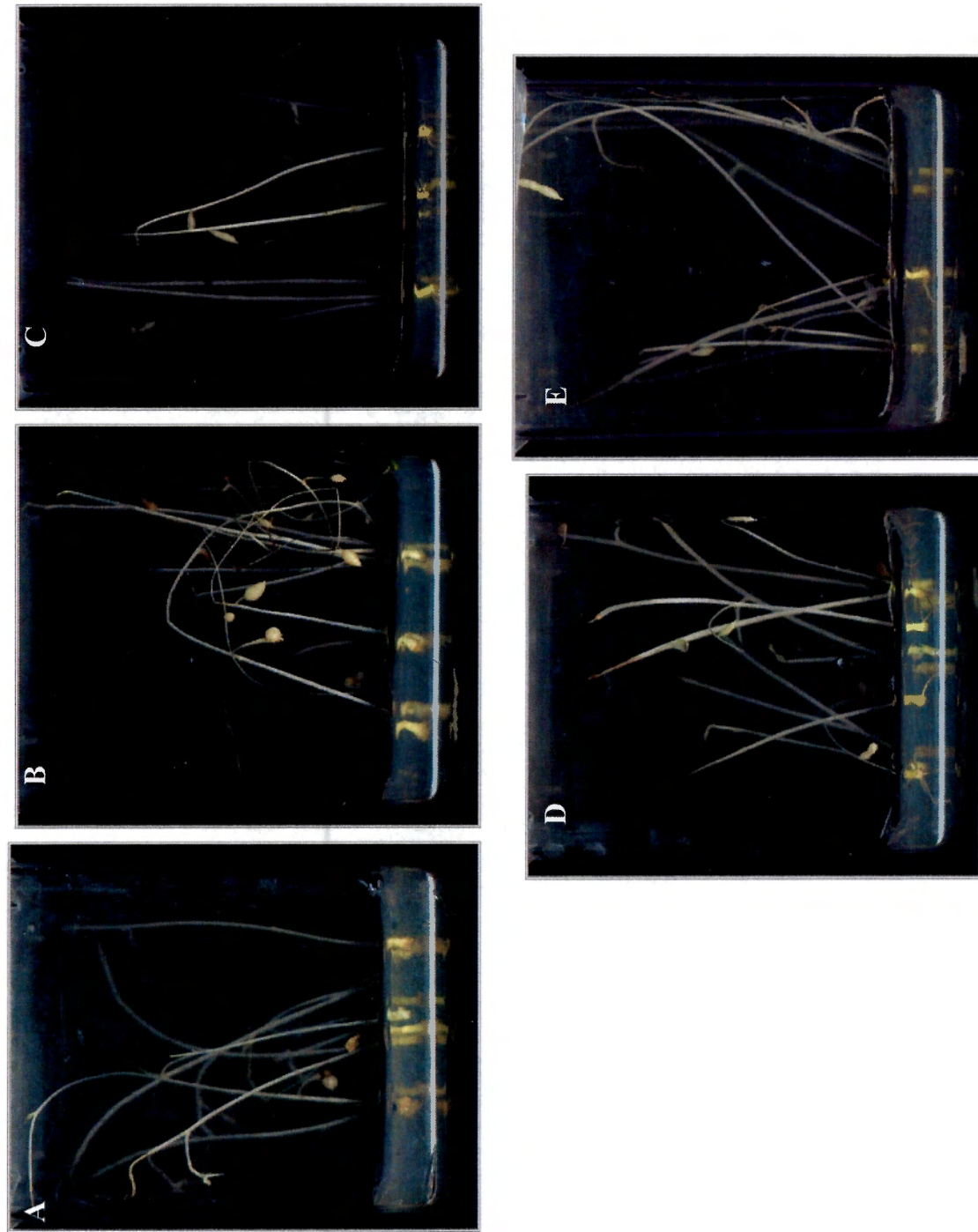


Figura 2. Producción de microtubérculos del genotipo Piñaza (*S. juzepczukii*) a los 90 días de inducción. A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico, E: ácido caféico.

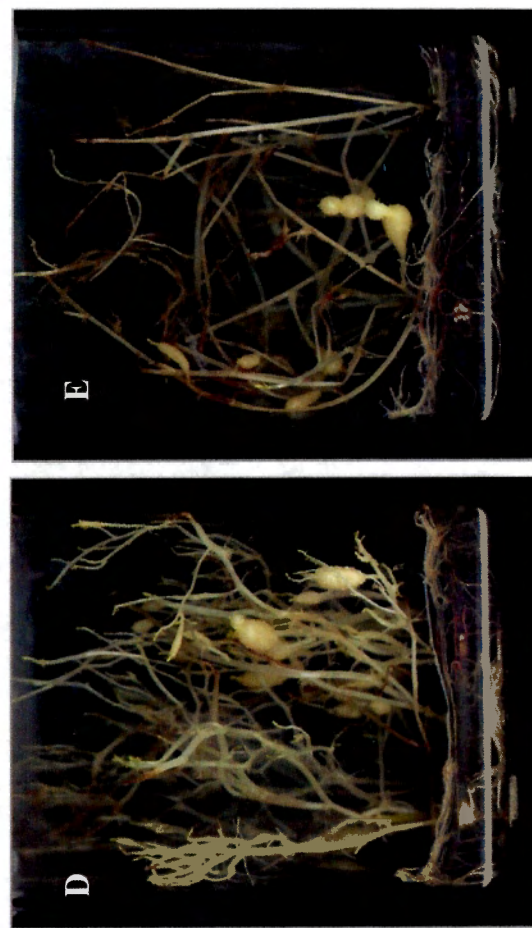
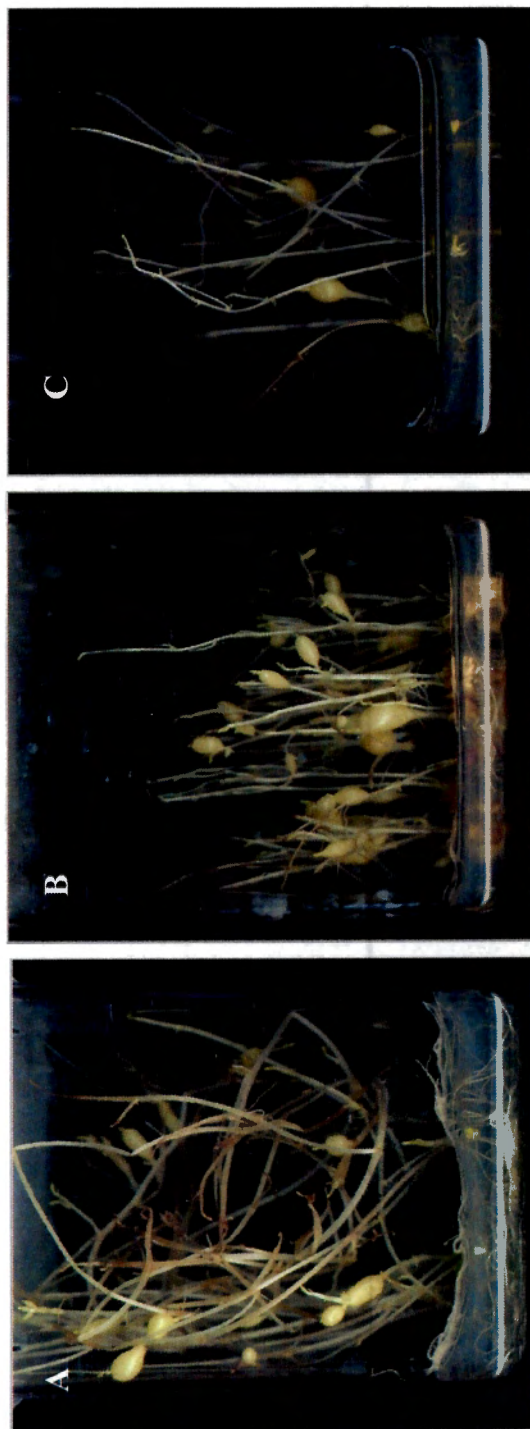


Figura 3. Producción de microtubérculos del genotipo CIP 705160 (*S. phureja*) a los 120 días de inducción. A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico, E: ácido caféico.

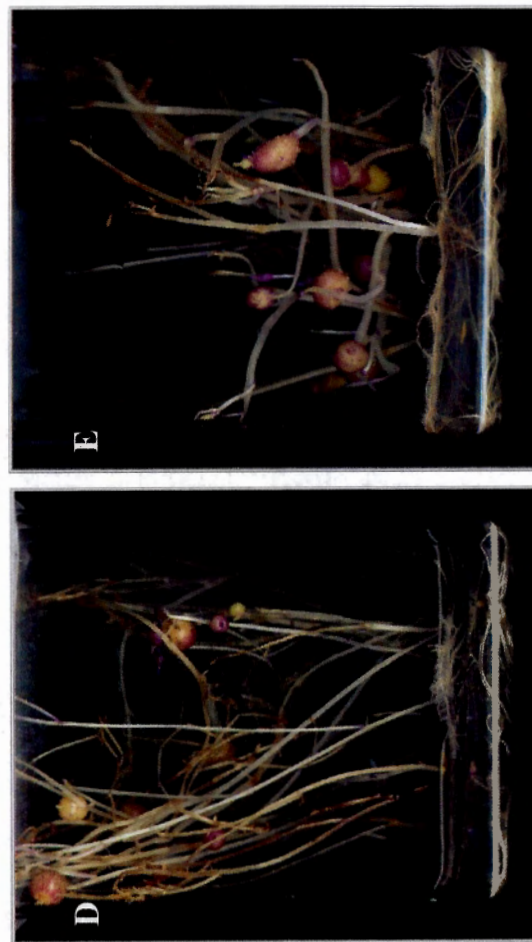


Figura 4. Producción de microtubérculos del genotipo CIP 705177 (*S. phureja*) a los 120 días de inducción.
A: Sucrosa 8%; **B:** BAP/CCC; **C:** ácido abscísico; **D:** ácido 2-cloroetil fosfónico, **E:** ácido caféico.

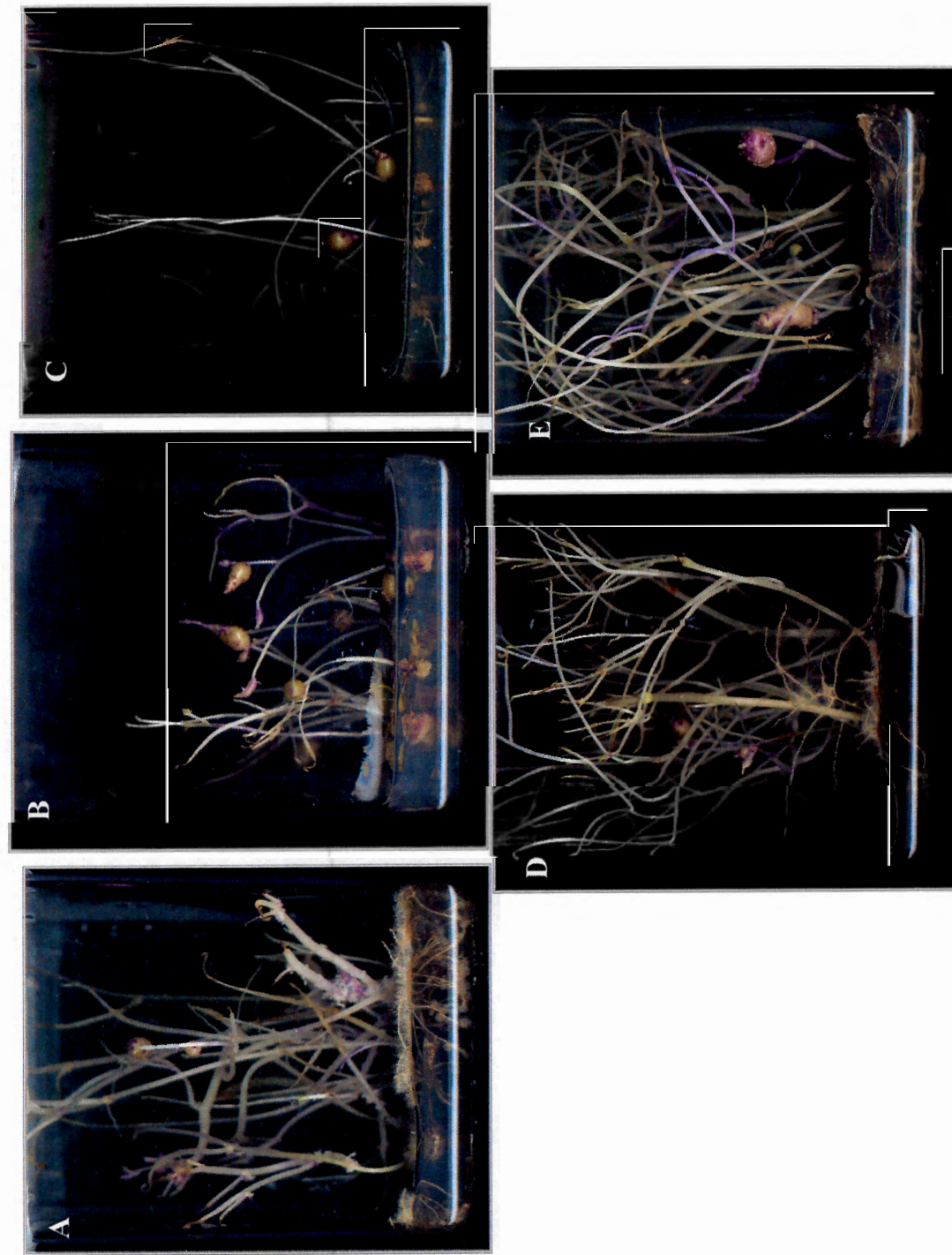


Figura 5. Producción de microtubérculos del genotipo Talón Seguro (*S. tuberosum subsp. andigena*) a los 120 días de inducción. A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico, E: ácido caféico.

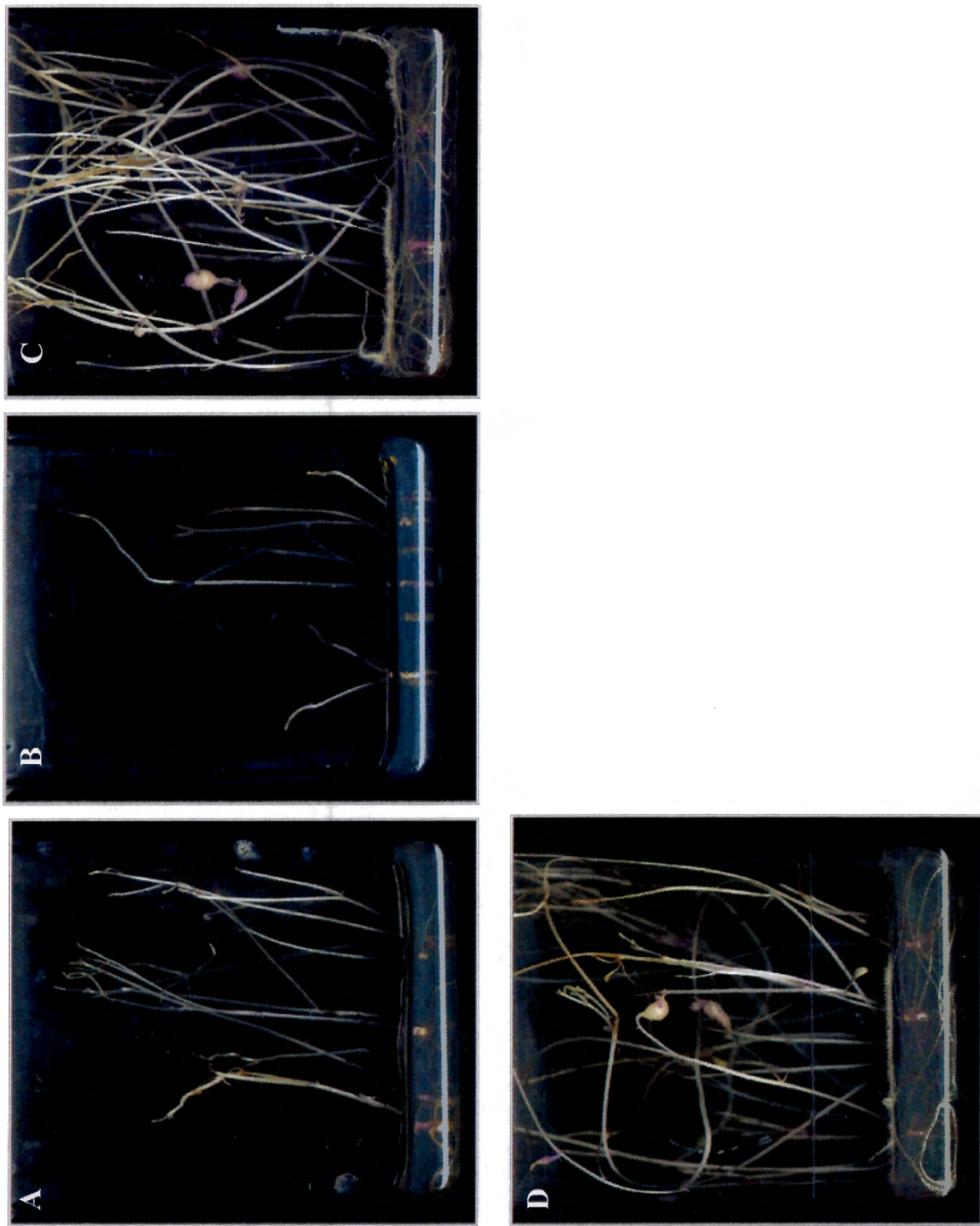


Figura 6. Producción de microtubérculos del genotipo Cco Obispo (*S. chaucha*) a los 90 días de inducción.
A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico, E: ácido caféico.

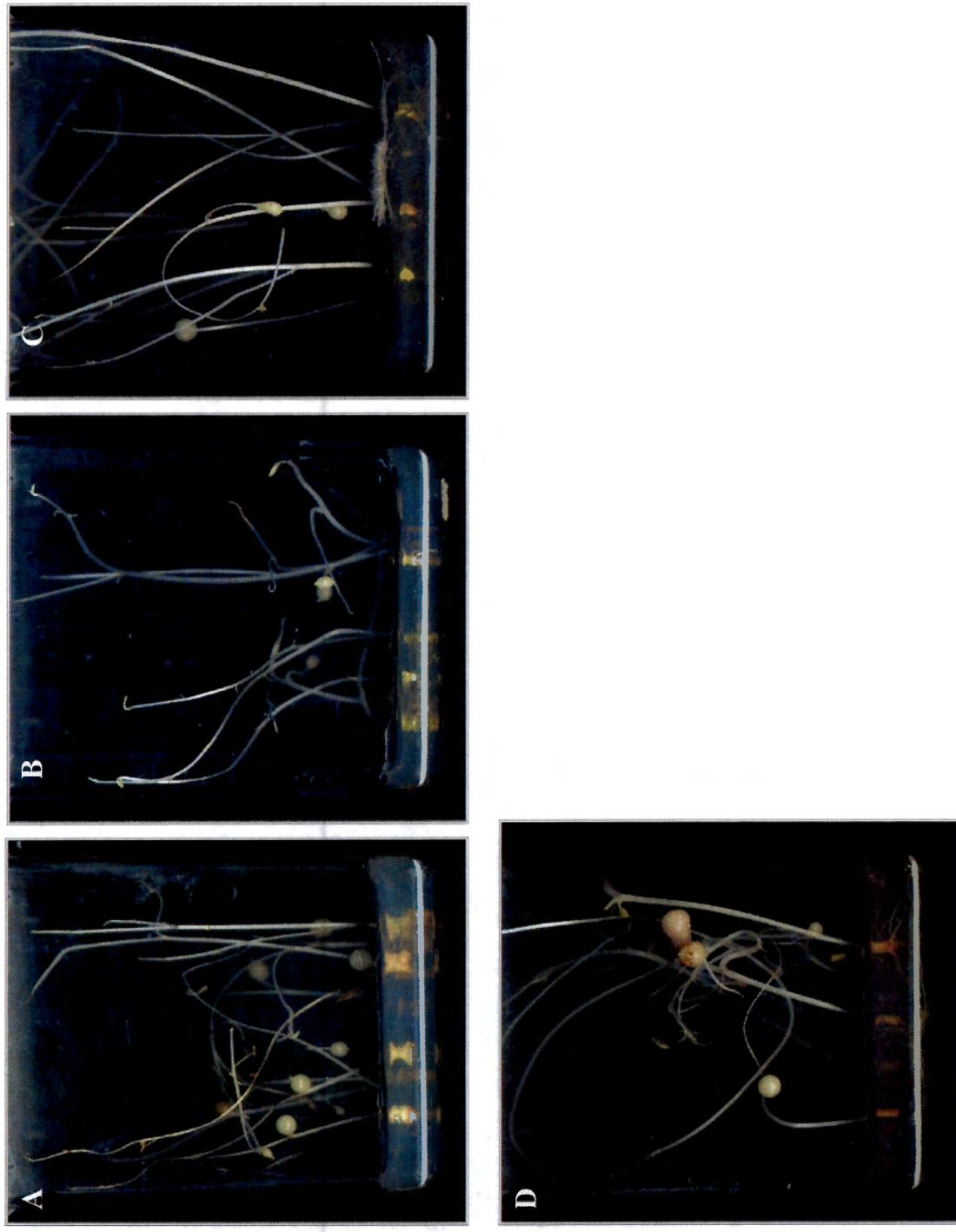


Figura 7. Producción de microtubérculos del genotipo Lucki morada (*S. curtilobum*) a los 90 días de inducción. A: Sucrosa 8%; B: BAP/CCC; C: ácido abscísico; D: ácido 2-cloroetil fosfónico, E: ácido caféico.

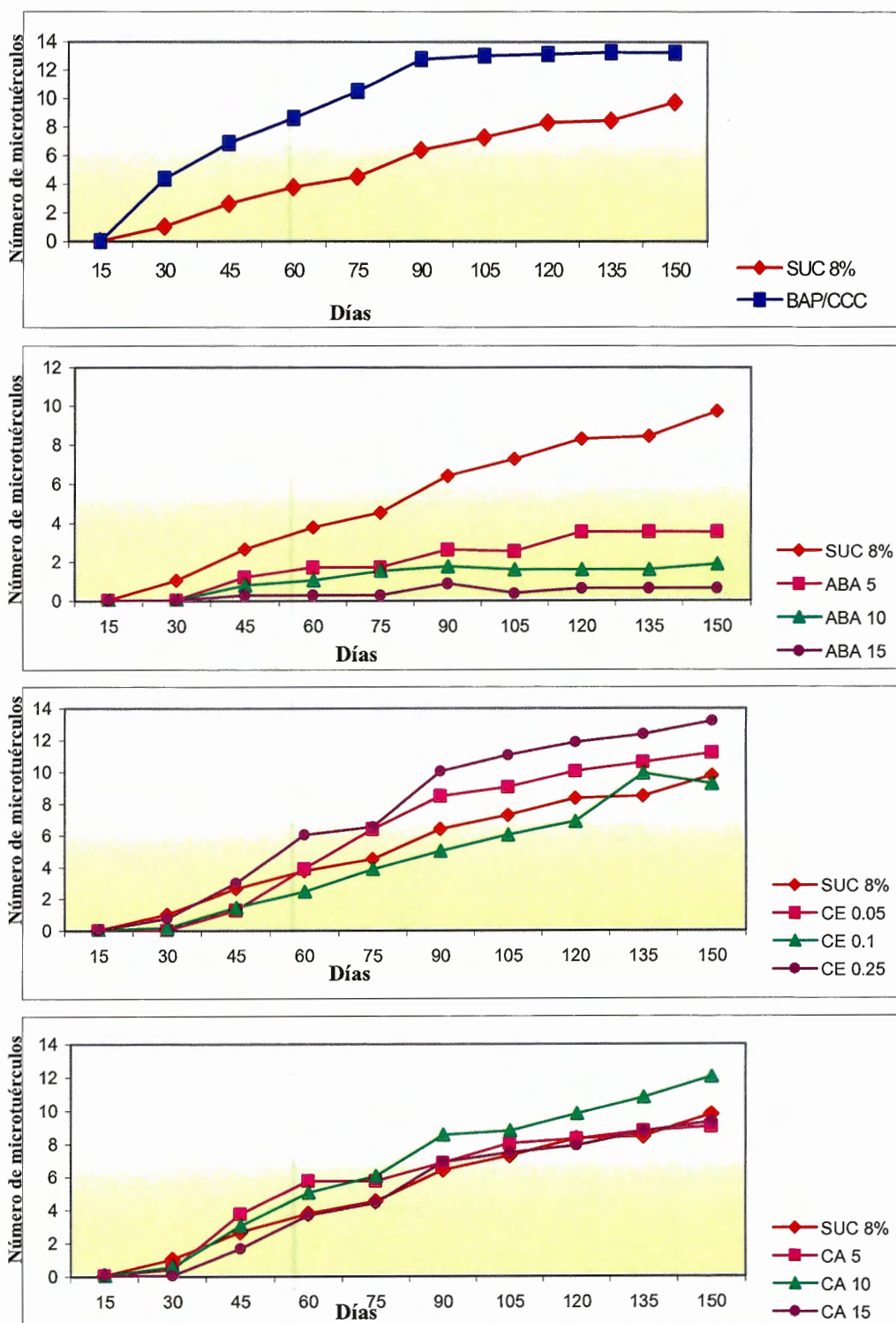


Figura 8. Inducción de microtubérculos del cultivar Papa Blanca (*S. tuberosum* subsp. *tuberosum*) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%). ABA: ácido abscísico (uM), CE: ácido 2-cloroetil fosfónico (mg/L), CA: ácido cafeico (mg/L).

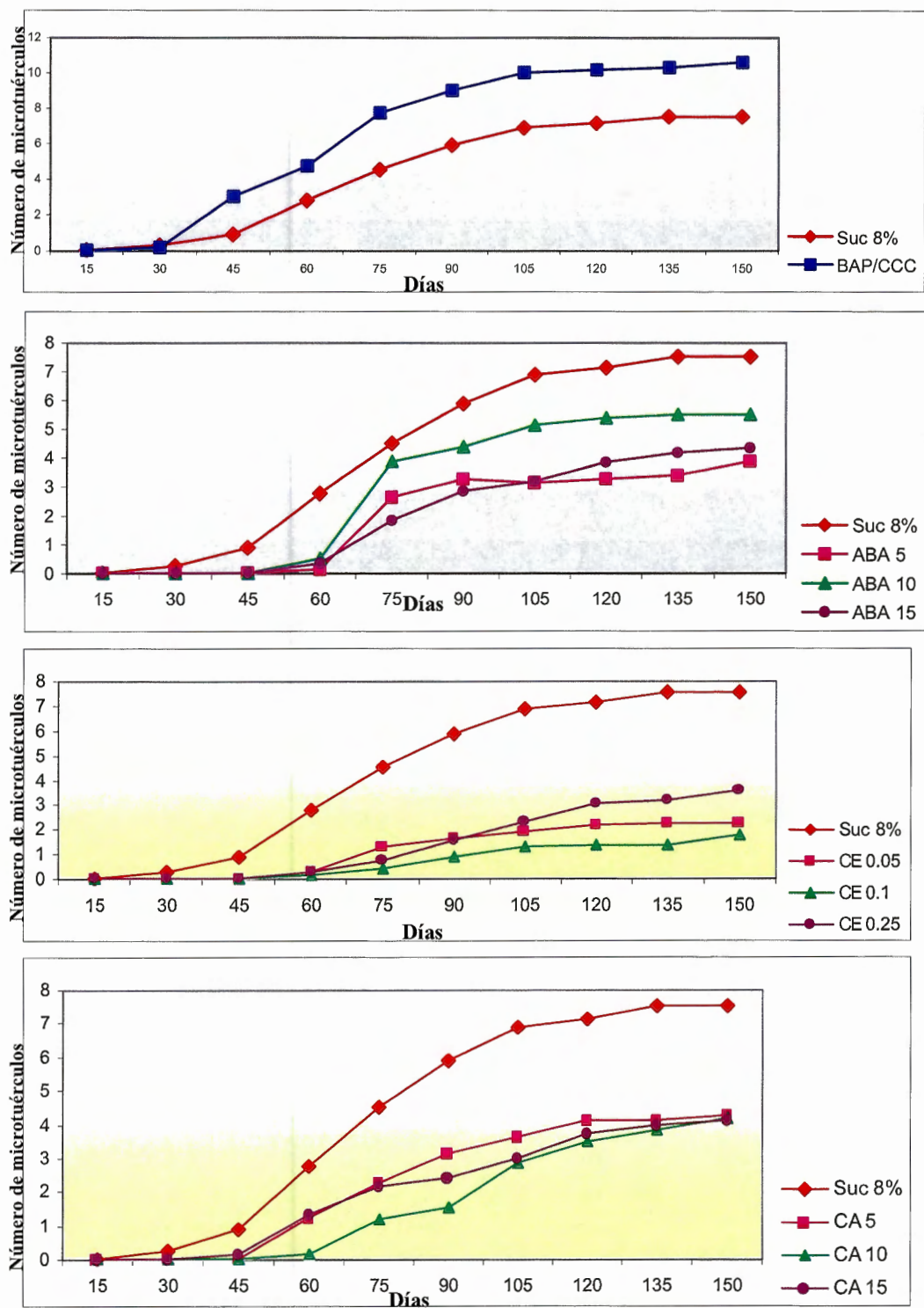


Figura 9. Inducción de microtubérculos del cultivar Piñaza (*S. juzepczukii*) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%). ABA: ácido abscísico (uM), CE: ácido 2-cloroetil fosfónico (mg/L), CA: ácido cafeico (mg/L).

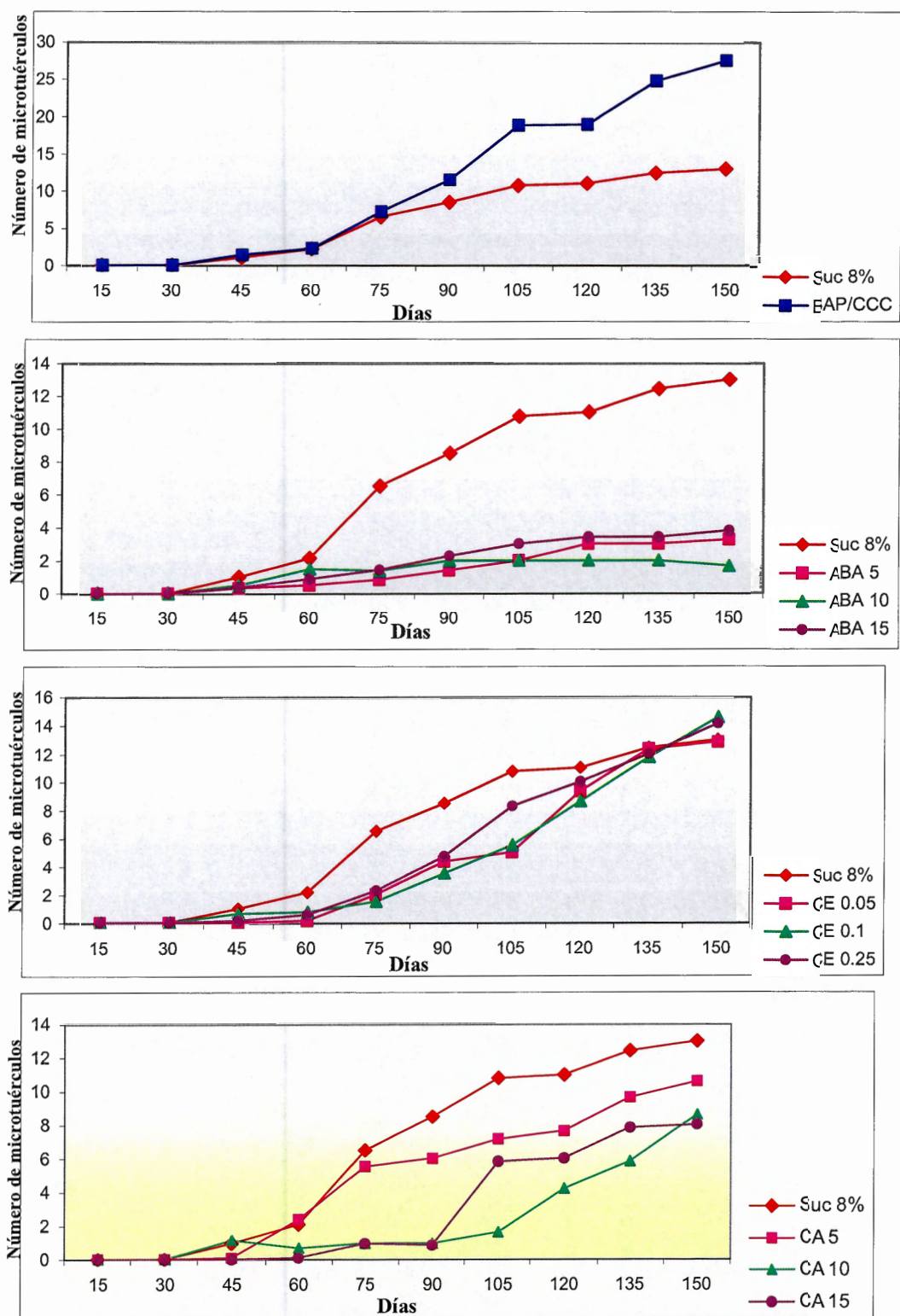


Figura 10. Inducción de microtubérculos del cultivar CIP 705160 (*S. phureja*) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%). ABA: ácido abscísico (uM), CE: ácido 2-cloroetil fosfónico (mg/L), CA: ácido cafeico (mg/L).

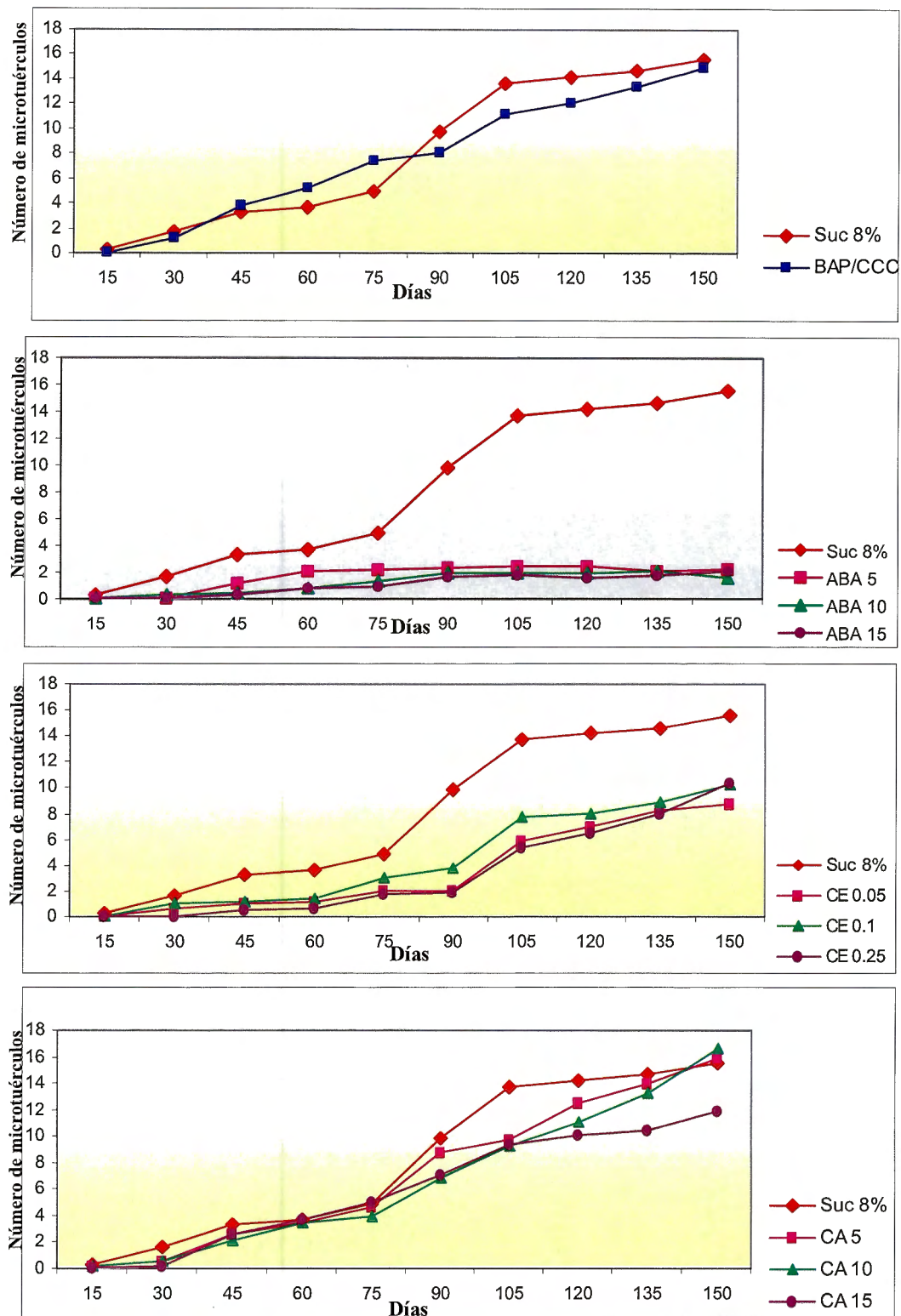


Figura 11. Inducción de microtubérculos del cultivar CIP 705177 (*S. phureja*) en 11 medios de cultivo (medio control: ABA: ácido abscísico (uM), CE: ácido 2-cloroetil fosfónico (mg/L), CA: ácido cafeico (mg/L).

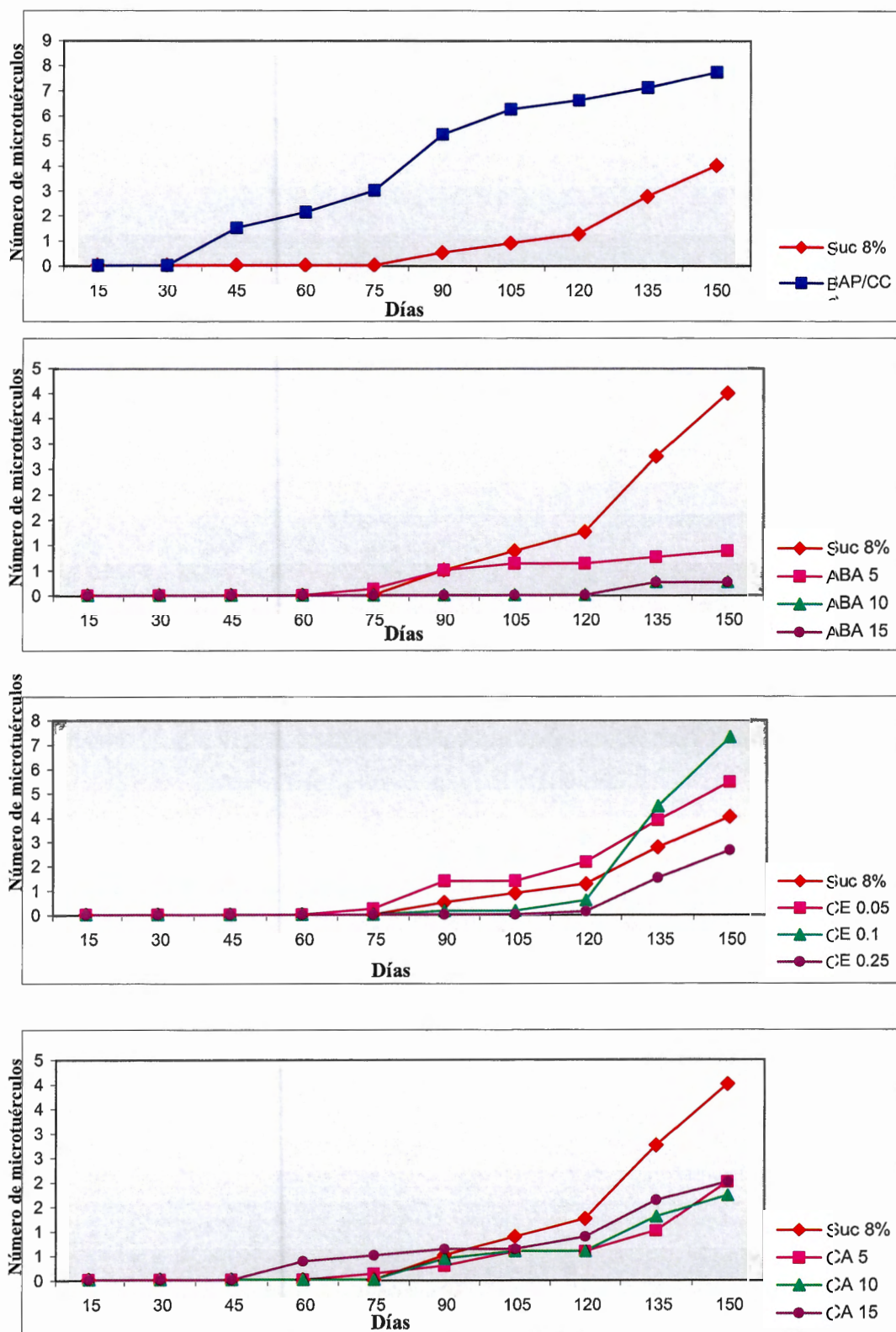


Figura 12. Inducción de microtubérculos del cultivar Talón Seguro (*Solanum tuberosum subsp. andigena*) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%). ABA: ácido abscísico (uM), CE: ácido 2-cloroetil fosfónico (mg/L), CA: ácido cafeico (mg/L).

III.2 Dormancia de los microtubérculos

El rompimiento de la dormancia de los microtubérculos antes de ser “cosechados”, ocurrió sólo en tres cultivares: Papa Blanca (*S. tuberosum subsp. tuberosum*) y las dos accesiones de *S. phureja*. Este rompimiento temprano de la dormancia se atribuye al efecto del genotipo y no a los reguladores sobre esta variable (Tabla 15).

Los microtubérculos de *S. phureja* fueron los más precoces en el rompimiento de la dormancia, ocurriendo el brotamiento a los 62-67 días del inicio de la tuberización *in vitro*. Este comportamiento *in vitro* se relaciona con el comportamiento en condiciones de campo, donde *S. phureja* no presenta dormancia. Los microtubérculos del cultivar Papa Blanca empezaron a brotar a partir de los 98-100 días del inicio de la tuberización *in vitro* (Tabla 16).

La evaluación del período de dormancia a partir de la “cosecha”, sólo se pudo realizar en 2 cultivares Papa Blanca (*S. tuberosum subsp. tuberosum*) y Piñaza (*Solanum juzepczukii*), los cuales produjeron el número de microtubérculos necesario para realizar el experimento. Se trató en lo posible de utilizar microtubérculos homogéneos (del mismo tamaño y peso).

Los datos se analizaron descriptivamente, y se pudo observar que la temperatura de almacenamiento tuvo efecto en el mantenimiento de la dormancia, observándose que a 6 °C el tiempo de dormancia aumentó (Figura 13). Además, cuando los microtubérculos fueron mantenidos a 21 °C la frecuencia de agregar la solución de sulfato de magnesio en las bandejas fue mayor, incrementando la labor de mantenimiento y conservación; por el contrario, a 6 °C no se requirió agregar la solución.

Durante el almacenamiento a 6°C se observó cambios de color de los microtubérculos, con variación de la pulpa hacia el oscuro, posiblemente debido al cambio hacia azúcares reductores; lo mismo también se observa en tubérculos mantenidos a 0-4°C.

Los microtubérculos producidos en los medios BAP/CCC y CEPA tuvieron un período de dormancia menor que el control (Sucrosa 8%) y que el tiempo reportado para tubérculos provenientes de campo. A diferencia, los microtubérculos producidos en los medios con ácido cafeico presentaron un período de dormancia mayor, hasta en 33 días, en el caso de Papa blanca, y 49 días en Piñaza (Figura 13).

III.3 Uso de los microtubérculos como propágulos para la conservación *in vitro*

Los microtubérculos de los cultivares Papa Blanca, Piñaza, CIP 705177, Ccoe Obispo, Talón Seguro y Lucki Morada, se utilizaron para este experimento.

Después de 30 días de ser inoculados en el medio de conservación, casi el 100% de los microtubérculos habían brotado. A los 60 días la sobrevivencia de las plántulas crecidas a partir de los brotes fue del 100 %, excepto en casos de contaminación por hongos ó bacterias. No hubo pérdida por deshidratación de microtubérculos debido a la hidratación que ocurre en el medio de cultivo (Tabla 17).

A los 6 meses en el medio de conservación, se evaluó el crecimiento de las plántulas obtenidas de los microtubérculos en comparación a las plántulas obtenidas a partir de nudos mediante una escala visual cualitativa del 1 al 5 (donde 1 significa muy malo, y 5 muy bueno). Se observó que las plántulas provenientes de microtubérculos presentaron un mejor crecimiento con tallos más vigorosos y mejor enraizamiento. Sin embargo, los nudos generaron plántulas de tallos delgados (Figura 14, Tabla 18).

Los microtubérculos obtenidos en los medios conteniendo BAP/CCC, CEPA y ácido cafeico, generaron plántulas más vigorosas que los nudos; no observándose efecto del CEPA ó el ácido cafeico sobre el crecimiento de las plántulas provenientes de los microtubérculos (Tabla 18).

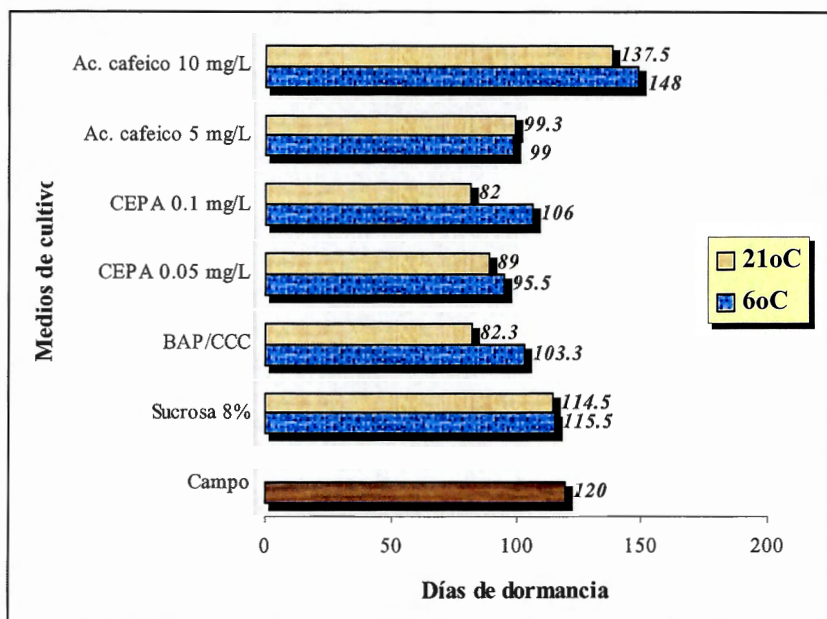
Tabla 15. Análisis de Varianza del rompimiento de la dormancia en la magenta (antes de la cosecha) en los cultivares Papa Blanca, CIP 705160 y CIP 705177.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	valor F	Pr>F
Genotipo	2	95,43	47,72	58,60	<.0001
Tratamiento	10	15,00	1,50	1,84	0,0615
Genotipo*Tratamiento	18	19,41	1,08	1,32	0,1874
Coef. Variación	10.52%				

Tabla 16. Efecto del genotipo en el rompimiento de la dormancia de los microtubérculos en la magenta (antes de la cosecha)

Cultivar	Especie	Media (días)	Agrupamiento Waller
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	97.8	A
Desconocido CIP 705177	<i>S. phureja</i>	67.2	B
Desconocido CIP 705160	<i>S. phureja</i>	62.2	B
LSD	0.3332		

A.



B.

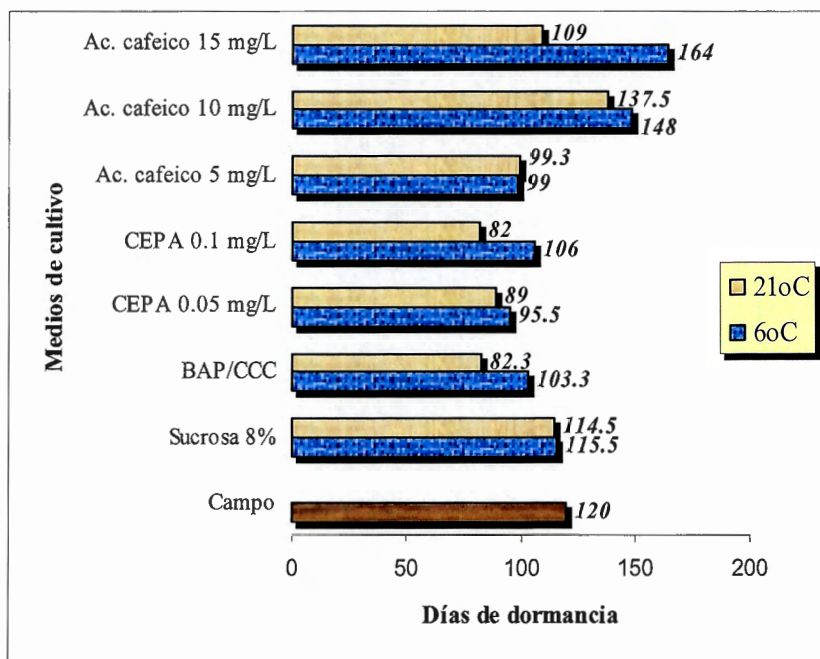


Figura 13. Efecto de la interacción medios de tuberización con la temperatura de almacenamiento sobre el brotamiento de los microtubérculos de la variedades Papa Blanca (A) y Piñaza (B).

Tabla 17. Porcentaje de brotación a los 30 días, y sobrevivencia a los 60 días, de los microtubérculos inoculados en el medio de conservación.

Cultivar	Especie	Control (nudo)		BAP/CCC		CEPA		Ácido cafeíco	
		% Brot.	% Sobr.	% Brot.	% Sobr.	% Brot.	% Sobr.	% Brot.	% Sobr.
Papa blanca	<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>	100	100	80	100	100	100	100	100
Piñaza	<i>S. juzepczukii</i>	100	100	50	100	100	100	100	100
CIP 705177	<i>S. phureja</i>	100	100	93.8	100	100	100	100	100
Ccoe obispo	<i>S. chaucha</i>	66.7	100	0	66.7	---	---	---	---
Talón seguro	<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>	100	100	25	50	42.9	100	25	100
Lucki morada	<i>S. curtilobum</i>	---	---	100	100	66.7	100	100	100

Tabla 18. Análisis del crecimiento de las plántulas a los 6 meses en el medio de conservación, mediante la prueba no paramétrica de Friedman.

	Crecimiento (moda)*	Agrupamiento
1er. Experimento		
BAP/CCC	4	A
Control (nudo)	1	B
Coef. Variación = 21.1%		
p = 0.0161		
LSD = 0.5553		
2do. Experimento		
BAP/CCC	4	A
CEPA	5	A
Ácido cafeíco	5	A
Coef. Variación = 45.8%		
p = 0.4920		
LSD = 1.3347		

* 1: muy poco crecimiento; 2: poco; 3: regular; 4: bueno; 5: muy bueno

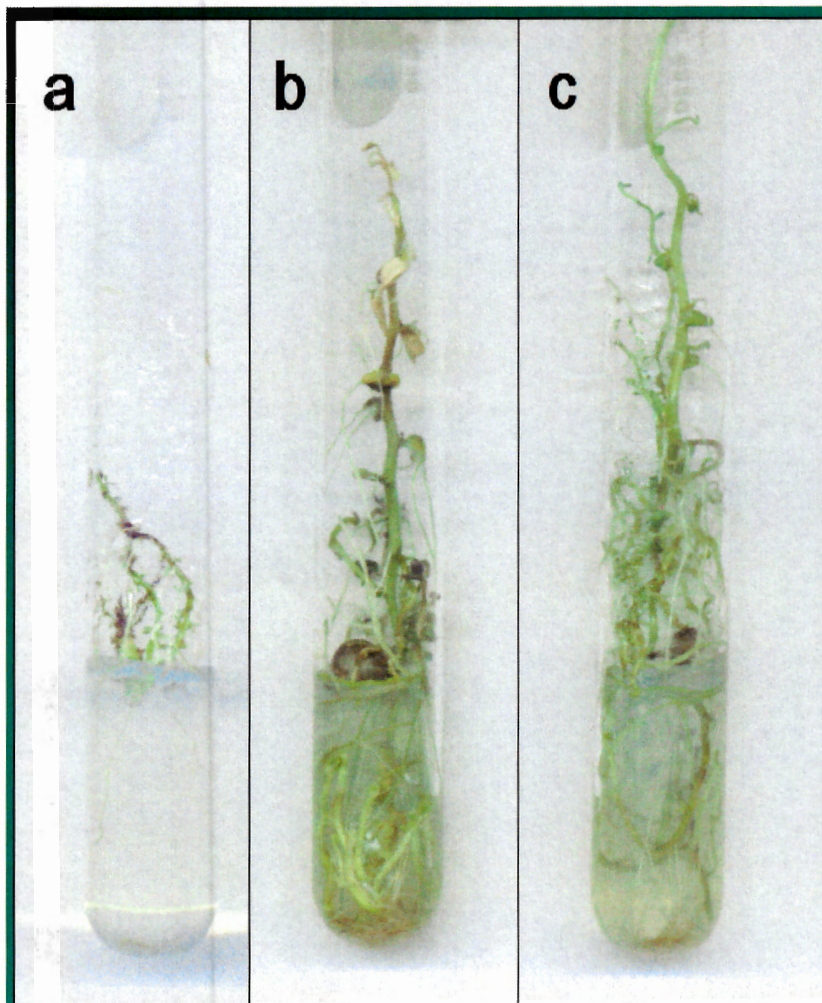


Figura 14. Uso de microtubérculos para la conservación *in vitro* de papa. (a) plántula proveniente de segmento nodal; (b) plántula proveniente de microtubérculo inducido con ác. cafeico y (c) plántula proveniente de microtubérculo inducido con BAP/CCC. (Observaciones a los 6 meses de conservación).

IV DISCUSIÓN

IV.1 Efecto del ABA, CEPA y ácido cafeico en la producción de microtubérculos.

Los resultados de este estudio indican una alta dependencia del medio de inducción de microtubérculos con el genotipo de papa para todas las variables evaluadas. Estos resultados coinciden con estudios previos de tuberización *in vitro* de papa (Seabrook, 1993; Bizarri, et al, 1995, Gopal et al, 1997; Borda, 2000).

El medio BAP/CCC permitió obtener una mejor producción de microtubérculos de los 7 cultivares de papa evaluados; en este medio la tuberización ocurrió más temprano, y se produjo el mayor número de microtubérculos (Tablas 3 y 6). Previamente, se había reportado la efectividad de la combinación del BAP con el CCC en la producción de microtubérculos (Estrada et al, 1986; Hussey y Stacey, 1984), lo cual puede deberse a la acción sobre inhibidores de la tuberización como el posiblemente a nivel del precursor ent-kaureno (Rademacher, 1999, citado por Vreugdenhil y Sergeeva, 1999).

Los medios conteniendo CEPA y ácido cafeico produjeron microtubérculos en los genotipos utilizados (Tabla 6 y 8). Los resultados obtenidos coinciden con los de García-Torres y Gómez-Campo (1973) los cuales atribuyen su acción al efecto inhibidor sobre las giberelinas. El efecto del CEPA también podría ser indirecto, por incremento de los niveles endógenos de ABA en los tubérculos de papa (Kirillova et al, 2003); el ABA a su vez regula los niveles de GA. Anteriormente se había sugerido que el etileno funciona como un regulador de la biosíntesis de ABA, y que este mecanismo podría estar involucrado en varios procesos de desarrollo vegetal (Grossman y Hansen, 2001). En cuanto al ácido cafeico, no hay reportes previos de su efecto sobre la tuberización *in vitro* de papa.

Sin embargo, el efecto del CEPA y el ácido cafeico sobre la inducción y número de microtubérculos no ha sido significativo respecto al medio control (Sucrosa 8%) (Tabla 6). Este efecto coincide con Koda y Okazawa (1983), quienes reportaron que, bajo condiciones no inductoras (Sucrosa 2%), el CEPA producía sólo estolones.

Esto sugiere que la presencia de sucrosa 8% en el medio de cultivo es suficiente para inducir la microtuberización (Hussey and Stacey, 1984; Garner and Blake, 1989; Vreugdenhil and Helder, 1992; Xu et al. 1998), incluso en condiciones no inductoras, tales como días largos y temperaturas mayores a 25°C (Hua-chun, G. et al, 2004).

Recientemente, se han realizado estudios sobre la hipótesis de la acción de la sucrosa como regulador de los niveles endógenos de hormonas involucradas en la inducción de la tuberización, mediante un sistema de transducción de señales. Un estudio de Vreugdenhil, et al, (1998) indica que la sucrosa por sí misma no regula la tuberización porque aún cuando el medio inductor tenga una concentración alta de sucrosa, ésta es contrarrestada por el ácido giberélico (GA). Algunos autores han mostrado que el sistema de transducción de señales generado por la sucrosa está estrechamente relacionado con los sistemas de ABA y el sistema de fotorreceptores en diferentes especies de plantas y órganos vegetales (Jackson, 1999; Smeekeens, S., 2000; Gibson, S., 2004). Es probable que la sucrosa actúe activando una señal de inducción para la regulación de ABA, y éste a su vez controle el GA que es el principal factor de la tuberización de papa. Lo que sí ha sido probado es que altas concentraciones de sucrosa inducen la transcripción de varios genes involucrados en el metabolismo de almacenamiento de carbohidratos en el tubérculo de papa (Raíces, M. et al, 2003).

El ABA no tuvo efecto sobre la tuberización *in vitro*; tempranamente ocurrió un ensanchamiento de los estolones sin la producción de microtubérculos (Tablas 3 y 4). Xu et al (1998) encontraron que los niveles endógenos de ABA disminuían, y se mantenían bajos, durante el período inicial de inducción ya sea en condiciones inductoras o no inductoras. Esto lleva a pensar que el ABA no es el principal regulador de la formación de tubérculos. También Murti y Banerjee (1976) y Smith y Rappaport (1969) reportaron que la aplicación exógena de ABA a plantas de papa no tuvo efecto en la formación de tubérculos. Más recientemente Gopal et al, (2004) también reportó que el ABA inhibió la tuberización *in vitro* (Gopal et al., 2004).

Sin embargo, varios autores han reportado un efecto inductor de la tuberización de ABA, aplicado exógenamente (Abdullah and Ahmad, 1980; Menzel, 1980, citados por Xu et al., 1998). Ellos observaron que el ABA incrementó el número de tubérculos, que la inducción ocurría más tempranamente, con la formación de tubérculos sésiles; ésto último coincidió con nuestros resultados con los medios conteniendo ABA; éstos iniciaban tempranamente un ensanchamiento en la yema axilar que podría llevar a la formación de tubérculos sésiles, pero el ensanchamiento no condujo a la tuberización sino a la formación de estolones cortos; éstos sólo se ensanchaban en la parte distal sin producir finalmente microtubérculos maduros. Este comportamiento también fue observado por Koda y Okazawa (1983), induciendo microtubérculos en medios conteniendo ABA.

Actualmente lo más aceptado es que el GA es el principal regulador de la formación del tubérculo de papa, ya que su concentración tiene un efecto directo sobre este proceso (Vreugdenhil y Sergeeva, 1999); pero a su vez, el GA debe ser activado por algún tipo de señal que puede ser regulada ya sea por el fotoperíodo ó por otras fitohormonas (Martínez-García et al., 2002).

IV.2 Dormancia de los microtubérculos: efecto de los reguladores de crecimiento y la temperatura de almacenamiento

Se encontró que el período de dormancia es específico del cultivar (Tabla 15) y coincide con su comportamiento en condiciones *in vivo*. Así por ejemplo, las accesiones de *S. phureja* que naturalmente no presentan dormancia tampoco la presentaron en condiciones *in vitro* (Tabla 16). Los resultados de esta tesis coinciden con los de Leclerc et al (1995) y Tabori et al (1999) que mostraron que hay una correlación significativa entre los períodos de dormancia *in vitro* e *in vivo*, y que el período de dormancia depende del cultivar.

Los resultados de este trabajo muestran que la temperatura de almacenamiento de los microtubérculos tiene un efecto importante en el mantenimiento de la dormancia. La reducción de la temperatura resultó en un incremento del período de dormancia comparado con el almacenamiento de los microtubérculos a la temperatura

de 21°C, y comparada con el tiempo de dormancia reportado bajo condiciones de campo (Figura 13).

Durante este estudio, observamos que a 21°C ocurrió una rápida deshidratación de los microtubérculos, aún cuando se mantuvo siempre una solución hidratante en las bandejas de almacenamiento. Esto se atribuye a la alta tasa de respiración del tubérculo, con pérdida de agua a través de las lenticelas, causando la pérdida de peso (Wiltshire y Cobb, 1996). Los microtubérculos almacenados a 4°C se mantuvieron turgentes durante el período de almacenamiento y no presentaron deshidratación; lo cual posiblemente se debe a la reducción de la tasa de respiración; este efecto también se observa en la reducción del crecimiento de los brotes, una vez terminado el período de dormancia (Suttle, 1995). Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores (Wiltshire y Cobb, 1996; Suttle, 1995; Tabori et al, 1999).

Sin embargo, el almacenamiento a temperaturas bajas produjo algunos cambios observados como el oscurecimiento de los microtubérculos; esto podría deberse al catabolismo del almidón para formar sucrosa, la cual a su vez es hidrolizada por la invertasa en azúcares reductores como glucosa y fructosa. La concentración de estos azúcares reductores durante el almacenamiento del tubérculo varía también de acuerdo al genotipo (Wiltshire y Cobb, 1996; Matsuura-Endo et al, 2004).

Los microtubérculos inducidos con los medios BAP/ CCC y CEPA mostraron un período de dormancia menor que aquellos inducidos en el medio control y al que ocurre en condiciones *in vivo* (Figura 13). Este resultado coincide con lo reportado por Rylski et al. (1974), pero contradice otros estudios que muestran que la aplicación exógena de etileno mantiene la dormancia del tubérculo (Cvikrová et al 1994). Este efecto contradictorio y dual del etileno está correlacionado con el tiempo de exposición; una exposición corta reduce el período de dormancia (Rylski et al, 1974) y una exposición continua mantiene la dormancia, demora el inicio del brotamiento y reduce el crecimiento del brote (Prange et al 1998, Jeong et al, 2002).

En este estudio pudimos observar que la adición de CEPA al medio de inducción produjo microtubérculos con dormancia menor al del control, y al reportado

en condiciones de campo. Esto puede deberse a que la concentración de CEPA utilizada no fue suficiente como para causar una exposición constante al etileno para el mantenimiento de la dormancia del microtubérculo. Sin embargo, éste resultado contradice a Suttle (1998), quien sugirió que la efectividad del etileno en el mantenimiento de la dormancia sólo ocurre al inicio de la dormancia, por lo cual sólo hubiese bastado que la producción de etileno ocurriera en el tejido vegetal al inicio de la inducción de los microtubérculos para que éstos se hubieran mantenido dormantes por un mayor tiempo.

El proceso de dormancia del tubérculo de papa es muy complejo, y recientes estudios genéticos confirman que se trata de un sistema de naturaleza poligénica (Van den Berg et al., 1996; Simko et al., 1997). Por lo tanto, no podemos explicar la dormancia sólo a través de la acción del etileno. Ya algunos autores han sugerido el rol importante de otras hormonas como el ABA (Simko et al., 1997; Suttle y Hultstrand, 1994; Suttle, 2004), el ácido giberélico y las auxinas (Dogonadze et al., 2000). Estudios recientes sobre la regulación fisiológica de la dormancia del tubérculo indican que el etileno sólo es requerido para la inducción de la dormancia, mientras que el ABA es el encargado del mantenimiento de ésta (Suttle, 2004).

El BAP también produjo un rompimiento de la dormancia más temprano, esto coincide con lo propuesto por Suttle (2001, 2004), que indica que el incremento en el contenido de citoquininas en el tubérculo, luego de la cosecha, parece ser uno de los factores principales que conducen al rompimiento de la dormancia.

La aplicación exógena del ácido cafeico en los medios de inducción y tuberización resultó en un incremento del período de dormancia de las dos especies de papa evaluadas (Figura 13). Cvikrová et al (1994) encontró una relación directa de la concentración del ácido cafeico con la dormancia: altas concentraciones durante el mantenimiento de la dormancia y bajas cuando ocurría el brotamiento. Los resultados de este estudio corroboran esta hipótesis ya que al aplicar ácido cafeico exógenamente resultó en un mantenimiento más prolongado de la dormancia.

Sin embargo no se ha determinado el rol que puede cumplir el ácido cafeico en el proceso de dormancia del tubérculo de papa. Se ha sugerido la hipótesis de que

pueda estar involucrado en la regulación del metabolismo del ácido indol acético, pero esta auxina no está directamente relacionada con la dormancia pero sí con el brotamiento (Suttle, 1996). Otro posible rol que puede cumplir el ácido cafeico es de inhibidor del rRNA, como se encontró en el tejido meristemático del tubérculo de papa (Korableva et al., 1973, mencionado por Cvikrova et al, 1994).

Numerosos estudios han demostrado que la dormancia de los microtubérculos puede ser manipulada durante el crecimiento *in vitro*, sin embargo la mayoría ha estado orientada hacia la reducción del período de dormancia para fines de producción (Coleman y Coleman, 2000; Borda, 2000). Nuestro estudio también demuestra que el período de dormancia puede ser extendido modificando el medio de inducción de tubérculos, agregando exógenamente ácido cafeico 10 ó 15 uM, y combinándolo con un almacenamiento a temperatura baja constante (4°C).

IV 3 Uso de los microtubérculos como propágulos para la conservación *in vitro*

Otro sistema de conservación *in vitro* propuesto es el uso de microtubérculos (Schilde-Rentschler y Roca, 1987; Golmirzaie y Toledo, 1998; Mix-Wagner, 1999). Estos pueden ser usados como explantes en un medio de conservación (Kwiatkowsky et al., 1988) o almacenados a 4°C sin requerimiento de medio de cultivo (Altoveros et al., 1996).

En el presente estudio, el uso de los microtubérculos como explantes para la conservación *in vitro* de papa resultó factible. Las plántulas generadas a partir de los brotes de microtubérculos resultaron ser vigorosas y con buen enraizamiento. Esto puede deberse a que estas plántulas obtienen mayores nutrientes a partir del tubérculo, lo que representa una ventaja para tolerar el estrés osmótico de los medios de conservación, y de ésta manera incrementar el período de mantenimiento del germoplasma.

A los 6 meses de conservación, los brotes de microtubérculos no presentaron reducción del crecimiento, a diferencia de los segmentos uninodales, utilizados rutinariamente para la conservación *in vitro*, que presentaron crecimiento retardado con tallos y raíces delgadas (Tabla 18). De esta manera, se pudieron conservar hasta aproximadamente dos años (dato no mostrado). Previamente, Lizárraga et al. (1989)

y Altoveros et al. (1996), habían reportado la utilización de los microtubérculos con una conservación efectiva hasta de un año.

Se sugiere que los microtubérculos de papa producidos en un medio de inducción conteniendo ácido cafeico, después del término de la dormancia en un régimen de almacenamiento a una temperatura de 4-6°C constante, sean utilizados como explantes para la conservación *in vitro* a mediano plazo del germoplasma de papa.

V. CONCLUSIONES

1. La tuberización y la dormancia de microtubérculos de papa mostraron alta dependencia genotípica.
2. El medio de inducción conteniendo bencil amino purina (BAP) 5 mg/L y cloruro de clorocolina (CCC) 500 mg/L produjo la inducción de microtubérculos más temprana, y el mayor número de microtubérculos.
3. Los medios conteniendo CEPA y ácido cafeico produjeron microtubérculos de los genotipos utilizados. Sin embargo su efecto no fue significativamente diferente al medio control, sugiriendo que la presencia de sucrosa 8% en el medio de cultivo es suficiente para inducir la microtuberización.
4. El ácido abscísico no indujo la tuberización *in vitro*.
5. El período de dormancia fue extendido utilizando el medio conteniendo ácido cafeico 10 ó 15 uM para la microtuberización, y combinándolo con un almacenamiento de los microtubérculos “cosechados” a una temperatura baja constante de 4°C a 6 °C.
6. El uso de los microtubérculos como explantes para la conservación *in vitro* a mediano plazo del germoplasma de papa resultó factible.

VI. RECOMENDACIONES

1. Mejorar el protocolo de inducción de tuberización para producir mayor número de microtubérculos, y conseguir la microtuberización en los genotipos de las especies *S. goniocalyx* y *S. stenotomum*.
2. Evaluar la dormancia de los microtubérculos de un número mayor de genotipos de las especies *S. tuberosum subsp. andigena*, *S. curtilobum* y *S. chaucha*, inducidos con ácido cafeico.
3. Evaluar mayor número de genotipos, y por mayor tiempo, en el uso de microtubérculos para la conservación *in vitro*.
4. Evaluar la recuperación de las plántulas producidas a partir de microtubérculos, después de su conservación *in vitro*, y evaluar su capacidad de producción de microtubérculos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Altoveros, E., C. Paet, G. Rodulfo, B. Kebasen, M. Alisto, M. Felizarta y M. Torillos.** 1996. Collection and maintenance of potato germplasm. En: *SAPPRAD on the third year of phase III: Selected research papers July 1993 - Jun 1994*. v. 1: Potato. Southeast Asian Program for Potato Research and Development (SAPPRAD). Manila, Filipinas. Pp 1 - 6.
- Audley, B.** 1979. Structure and properties of a 2-chloroethylphosphonic acid (etephon) metabolite from *Hevea brasiliensis* bark. *Phytochemistry*, vol. 18, pp-53-60. Pergamon Press Ltd., Inglaterra.
- Bizarri, M., Borghi, L. y P. Ranalli.** 1995. Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annals of Applied Biology* 127: 175-181.
- Booth, R. y R. Shaw.** 1981. Principios de almacenamiento de papa. CIP. Pp. 15-17.
- Borda, C.** 2000. Efecto de inductores de tuberización y fotoperíodo sobre la microtuberización de *Solanum tuberosum* L. *in vitro*. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú. 43 pp.
- Burton, W.G.** 1963. Concepts and mechanism of dormancy. En: *The Growth of the potato*. Editado por J. D. Ivins y F.,L. Milthorpe. Butterworths. Londres, Inglaterra. pp. 17-40.
- Burton, W.G., van Es, A. y Hartmans, K.J.** 1992. The physics and physiology of storage. En: Harris, P.M. (ed.). *The Potato Crop; the scientific basis for improvement*. Segunda edición. Chapman & Hall, Gran Bretaña. Pp. 608-709.

- Cheng, T. e Y. Zhang.** 1989. Influence of light intensity, daylength, CCC and BAP, on in vitro potato tuberization. En: CIP, Region VIII Chinese Academy of Agricultural Science (CAAS). Potato and Sweetpotato Research. En: China from 1986 to 1989 (China, Peoples's Republic of). Pp. 144-147.
- Christiansen, J.** 1967. El cultivo de la papa en el Perú. Museo Nacional de Antropología y Arqueología. Lima, Perú. Pp. 45-64.
- Coleman, W.K. y S.E. Coleman.** 2000. Modification of potato microtuber dormancy during induction and growth in vitro or ex vitro. *American Journal of Potato Research* 77:103-110.
- Cornejo, L.** 1983. Inducción de tuberización in vitro en diferentes genotipos de papa. Tesis para optar el grado de bachiller en Ciencias biológicas. Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa, Perú. 45 pp.
- Cronquist, A.** 1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. Segunda edición. The New York Botanical Garden, New York-Estados Unidos. 555 pp.
- Cvikrová, M., L. Sukhova, J. Eder, y N. Korableva.** 1994. Possible involvement of abscisic acid, ethylene and phenolic acids in potato tuber dormancy. *Plant Physiology Biochemistry* 1994, 32 (5), 685-691.
- Dodds, J.** 1988. Tissue culture technology: Practical application of sophisticated methods. *American Potato Journal* vol. 65: 167-180.
- Dogonadze, M.Z., Korableva, N.P., Platonova, T.A. y G.L. Shaposhnikov.** 2000. Effect of gibberellin and auxin on the synthesis of abscisic acid and ethylene in buds of dormant and sprouting potato tuber. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 36 (5): 588-591.
- Espinoza, N., R. Estrada, D. Silva-Rodríguez, P. Tovar, R. Lizarraga y J. Dodds.** 1986. The potato: a model crop plant for tissue culture. *Outlook on Agriculture* 15 (1): 21-26.

- Espinoza, N., R. Lizarraga, C. Sigueñas, F. Buitron, J. Bryan y J. Dodds.** 1992. Tissue Culture: Micropropagation, conservation, and export of potato germplasm. CIP Research Guide 1. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 19 páginas.
- Estrada, R., P. Tovar y J. Dodds.** 1986. Induction of in vitro tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 7: 3-10.
- Ewing, E.** 1985. Cuttings as simplified models of the potato plant. En: Potato Physiology. Editado por P. Li. Academic Press, Inc. Estados Unidos. Pp. 154-199.
- Ewing, E.** 1992. Tuber formation in potato: induction, initiation, and growth. *Horticultural reviews*, volume 14. pp. 89-198.
- FAOSTAT.** 2004. En: <http://apps.fao.org>
- García-Torres, L. & Gómez-Campo, C.** 1973. In vitro tuberization of potato sprouts as affected by ethrel and gibberellic acid. *Potato Research* 16 (1973): 73-79.
- Garner, N. y J. Blake.** 1989. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances. *Annals of Botany* 63: 663-674.
- Gibson, S. I.** 2003. Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signalling network. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 55: 395.
- Golmirzaie, A. y Toledo, J.** 1998. Noncryogenic, long-term germplasm storage. En: Methods in Molecular Biology, Vol.111: Plant Cell Culture Protocols, editado por R.D.Hall. Editorial Humana Press Inc. Totowa, USA. Pp. 95-101.

- Golmirzaie, A., A. Panta, y J. Toledo.** 1999. Biotechnological advances in the conservation of root and tuber crops. En: *Plant Conservation Biotechnology*, editado por E. Benson. Editorial Taylor and Francis. Londres, Inglaterra. Pp. 165-178.
- Gopal, J., Minocha, J. y J. Sidhu.** 1997. Comparative performance of potato crops raised from microtubers induced in the dark versus microtuber induced in light. *Potato Research* 40:407-412.
- Gopal, J., Minocha, J. y H. Dhaliwal.** 1998. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports* 17:795-798
- Gopal, J., Chamail, A. y D. Sarkar.** 2004. In vitro production of microtubers for conservation of potato germplasm: Effect of genotype, abscisic acid and sucrose. *In Vitro Cell Development Biology* 40: 485-490.
- Grossmann, K. Y H. Hansen.** 2001. Ethylene-triggered abscisic acid: A principle in plant growth regulation? *Physiologia Plantarum* 113 (1): 9.
- Harding, K.** 1991. Molecular stability of the ribosomal RNA genes in *Solanum tuberosum* plants recovered from slow growth and cryopreservation. *Euphytica* 55: 141-146.
- Hawkes, J.G.** 1992. Biosystematics of the potato. En: Harris, P.M. (ed.). *The Potato Crop; the scientific basis for improvement*. Segunda edición. Chapman & Hall, Gran Bretaña. Pp. 13- 60.
- Hawkes, J.G.** 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships. En: Bradshaw, J.E. y G.R. Mackay (ed.). *Potato Genetics*. CAB International. Inglaterra. Pp. 3-42.
- Hayward, H.E.** 1938. Chapter XVII Solanaceae *Solanum tuberosum*. En: *The Structure of Economic Plants*. Ed. Macmillan. New York, USA. 674 pp.

- Hua-chun, G., Guan-li, X., Ben-cai, S. y L. Hong-gao.** 2004. Effect of sucrose concentrations in media of potato tuber induction on endogenous hormones. En: <http://www.potatocongress.org/sub.cfm?source=299>
- Huamán, Z.** 1986. Botánica Sistemática y Morfología de la Papa. Boletín de Información Técnica 6. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú.
- Hussey, G. y N.J. Stacey.** 1984. Factors affecting the formation of in vitro tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annals of Botany* 53: 565-578.
- Jackson, S.D.** 1999. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. *Plant Physiology* 119: 1-8.
- Jeong, J.C., Prange, R.K. y B.J. Daniels-Lake.** 2002. Long-term exposure to ethylene affects polyamine levels and sprout development in 'russet burbank' and 'shepody' potatoes. *J Am Soc Hortic Sci.* 127: 122-126.
- Kirillova, IG., Evsiunina, A.S., Puzina, T.I. y N.P. Korableva.** 2003. Effect of ambiol and 2-chloroethylphosphonic acid on the content of phytohormones in potato leaves and tubers. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 39 (2): 237-241.
- Koda, Y. & Okazawa, Y.** 1983. Influences of Environmental, Hormonal and Nutritional Factors on Potato Tuberization in vitro. *Japanese Journal of Crop Science*, vol. 52, No. 4. Japón.
- Krauss, A.** 1985. Interaction of nitrogen nutrition, phytohormones, and tuberization. En: *Potato Physiology*. Editado por P. Li. Academic Press, Inc. Estados Unidos. Pp. 209-230.
- Kwiatkowski, S.; M. Martin, C. Brown y Sluis, C.** 1988. Serial microtuber formation as a long-term conservation method for in vitro potato germplasm. *American Potato Journal* 65: 369-375.

- Lawrence, C. y W. Barker.** 1963. A study of tuberization in the potato, *Solanum tuberosum*. *American Potato Journal* vol. 40: 349-356.
- Lê, C.L.** 1999. In vitro microtuberization: an evaluation of culture conditions for the production of virus-free seed potatoes. *Potato Research* 42 (1999) 489-498.
- Leclerc, Y., Donnelly, D.J., Coleman, W.K. y R.R. King.** 1995. Microtuber dormancy in three potato cultivars. *American Potato Journal* 72(4):215-223.
- Lizarraga, R., Huaman, Z. y J. H. Dodds.** 1989. In vitro conservation of potato germoplasm at the International Potato Center. *American Potato Journal* 66: 253-269.
- Martínez-García, J., García-Martínez, J., Bou, J. Y S. Prat.** 2002. The interaction of gibberellins and photoperiod in the control of potato tuberization. *Journal of Plant Growth Regulation* 20: 377-386.
- Matsuura-Endo, C., Kobayashi, A., Noda, T., Takigawa, S., Yamauchi, H. Y M. Motoyuki.** 2004. Changes in sugar content and activity of vacuolar acid invertase during long-temperature storage of potato tubers from six Japanese cultivars. *Journal of Plant Research* 117: 131-137.
- Ministerio de Agricultura.** 2003. En: <http://www.portalagrario.gob.pe>
- Mix-Wagner, G.** 1999. The conservation of potato cultivars. *Potato Research* 42: 427-436.
- Murashige, T. y F. Skoog.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum* 15: 473-497
- Murti, G.S.R. and V.N. Banerjee.** 1976. The effects of abscisic acid and gibberellic acid on growth and development of the potato in relation of photoperiod. *JIPA* 3 (2): 69-71.

- Palmer, C. y E. Smith.** 1970. Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. cultured in vitro. *Plant Cell Physiology* 11: 303-314.
- Prange, R.K., Kalt, W., Daniels-Lake, B.J., Liew, C.L., Page, R.T., Walsh, J.R., Dean, P. y R. Coffin.** 1998. Using ethylene as a sprout control agent in stored 'Russet Burbank' potatoes. *J Am Soc Hortic Sci.* 123: 463-469.
- Raíces, M., Ulloa, R.M., MacIntosh, G.C., Crespi, M. y M.T. Téllez-Iñón.** 2003. StCDPK1 is expressed in potato stolon tips and is induced by high sucrose concentration. *Journal of Experimental Botany* 54 (392): 2589-2591.
- Rylski, I., L. Rappaport y P. Harlan.** 1974. Dual effects of ethylene on potato dormancy and sprout growth. *Plant Physiology* (1974) 53: 658-662.
- Schilde-Rentschler, L. y W. Roca.** 1987. Tissue culture for the international exchange of potato and cassava germplasm. En: *Biotechnology in agriculture and Forestry, Vol.3: Potato*, editado por Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlag Berlin, Alemania. Pp. 453-465.
- Seabrook, J.E.A. Coleman, S. y D. Levy.** 1993. Effect of photoperiod on in vitro tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34(1):43-51.
- Seminario, J.** 1993. Terminología usada en Recursos Genéticos. Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú. 64 páginas.
- Simko, I., McMurri, S., Yang, H., Manschot, A., Davies, P.J. y E. Ewing.** 1997. Evidence from polygene mapping for a causal relationship between potato tuber dormancy and abscisic acid content. *Plant Physiology* 115: 1453-1459.
- Smeekens, S.** 2000. Sugar-induced signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 49-81.

- Smith, O.E. y L. Rappaport.** 1969. Gibberellins, inhibitors, and tuber formation in the potato, *Solanum tuberosum*. *American Potato Journal* 46(6):185-191
- Sorce, C., A. Piaggese, N. Ceccarelli y R. Lorenzi.** 1996. Role and metabolism of abscisic acid in potato tuber dormancy and sprouting. *Journal of Plant Physiology*. Vol. 149: 548-552.
- Steward, F.C., U. Moreno y W. Roca.** 1981. Growth, form and composition of potato plants as affected by environment. *Annals of Botany* vol. 48 (1981) supplement 2. Pp. 1-45.
- Suttle, J. y J. Hultstrand.** 1994. Role of endogenous abscisic acid in potato microtuber dormancy. *Plant Physiology* (1994) 105: 891-896.
- Suttle, J.** 1995. Postharvest changes in endogenous ABA levels and ABA metabolism in relation to dormancy in potato tubers. *Physiologia Plantarum* 95: 233-240.
- Suttle, J.C.** 1996. Dormancy in tuberous organs: problems and perspectives. En: G.A. Lang (ed.). *Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. CAB International, Wallingford-UK. Pp. 133-143.
- Suttle, J.** 1998. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiology* (1998) 118: 843-848.
- Suttle, J.** 2001. Dormancy-related changes in cytokinin efficacy and metabolism in potato tubers during postharvest storage. *Plant Growth Regulation* 35: 199-206.
- Suttle, J.** 2004a. Physiological regulation of potato tuber dormancy. *American Journal of Potato Research* 81(4): 253-262.
- Suttle, J.C.** 2004b. Involvement of endogenous gibberellins in potato tuber dormancy and early sprout growth: a critical assessment. *Journal of Plant Physiology* Vol. 161, Número 2, pp. 157-164.

- Tabori, K.M., Dobranszki y A. Ferenczy.** 1999. Some sprouting characteristics of microtubers. *Potato Research* 42: 611-617.
- Thieme, R.** 1992. An in vitro potato cultivar collection: Microtuberization and storage of microtubers. *Plant Genetic Resources Newsletter - FAO/ IBPGR* no. 88/89: 17-19.
- Van den Berg, J.H., Ewing E.E., Plaisted, R.L., McMurry, S. y M.W. Bonierbale.** 1996. QTL analysis of potato tuber dormancy. *Theoretical and Applied Genetics* 93(3):317-324.
- Van Es, A. y Hartmans, K.** 1981. Dormancy period, sprouting and sprout inhibition. En: Storage of potatoes. Post-harvest behaviour, store design, storage practice, handling. Editado por A. Rastovski, et al. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen, Holanda. pp. 99-119.
- Venner, G.** 1993. Estimation of tuber initiation as influenced by daylength and temperature. Report of a research period for the Department of Theoretical Production-ecology. Wageningen, Holanda. pp. 8-13.
- Vreugdenhil D y J.Helder.** 1992. Hormonal and metabolic control of tuber formation. En: Karssen CM, Van Loon LC & Vreugdenhil D (eds.) Progress in Plant Growth Regulation. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Holanda. Pp. 393-400.
- Vreugdenhil, D., Boogaard, Y., Visser, R.G.F. y S.M. de Bruijn.** 1998. Comparison of tuber and shoot formation from in vitro cultured potato explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 53: 197-204.
- Vreugdenhil, D. y L. Sergeeva.** 1999. Gibberellins and tuberization in potato. *Potato Research* 42 (199) 471-481.

- Wareing, P.F. y A. Jennings.** 1979. The hormonal control of tuberization in potato. En: Plant Growth substances, editado por F. Skoog. Proceedings 10th International Conference. Springer Verlag. Berlin, Alemania. Pp. 293-300.
- Warner, H.L. y A.C. Leopold.** 1969. Short communication: Ethylene evolution from 2-chloroethylphosphonic acid. *Plant Physiology* 44: 156-158.
- Wescott, R. J.** 1981a. Tissue culture storage of potato germplasm. 1. Minimal growth storage. *Potato Research* 24 (1981) 331-342.
- Wescott, R. J.** 1981b. Tissue culture storage of potato germplasm. 2. Use of growth retardants. *Potato Research* 24: 343-352.
- Whan, C.Y., Cho, J.L. y S.M. Kang.** 1994. Dormancy of microtubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). En: Rasco Jr., E.T. y F.B. Aromin (eds.). Proceedings of the fourth Asian Potato Association triennial conference, v.1: Agronomy, seed production and processing. APA CIP SAPPRAD, Korea. pp. 202-205.
- Wiltshire, J. y A. Cobb.** 1996. A review of the physiology of potato tuber dormancy. *Annals of Applied Biology* 129: 553-569.
- Withers, L.A., Wheelans, S.K. y J. T. Williams.** 1990. In vitro conservation of crop germplasm and the IBPGR databases. *Euphytica* 45(1):9-22.
- Wood, K.D.** 1990. Growth and tuberization of five varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.) in vitro. Tesis para obtener el grado de Master en Botánica. University of West Indies. Facultad de Natural Sciences. Kingston, Jamaica. 136 pp.
- Xu, X., A. van Lammeren, E. Vermeer y D. Vreugdenhil.** 1998. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation in vitro. *Plant Physiology* 117: 575-584.
- Yang, S.F.** 1969. Short communication: Ethylene evolution from 2-chloroethylphosphonic acid. *Plant Physiology* 44: 1203-1204.

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Análisis de varianza del inicio de la tuberización de 7 cultivares de papa usando 11 medios de tuberización	24
Tabla 2. Inicio de la tuberización en 7 diferentes cultivares de papa	24
Tabla 3. Efecto de los medios de inducción sobre el inicio de la tuberización en 7 cultivares de papa	25
Tabla 4. Efecto de diferentes medios de tuberización sobre el tiempo de inducción (días) de 7 cultivares de papa	25
Tabla 5. Análisis de varianza de la variable número de microtubérculos obtenidos de 8 cultivares de papa usando 11 medios de tuberización	28
Tabla 6. Efecto de los medios de tuberización sobre el número de microtubérculos en 8 cultivares de papa	28
Tabla 7. Número de microtubérculos por magenta obtenidos de 8 cultivares de papa	29
Tabla 8. Efecto de los medios de inducción sobre el número de microtubérculos producidos en 7 cultivares de papa	29
Tabla 9. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis del efecto de los tratamientos y del genotipo en el peso de los microtubérculos	30
Tabla 10. Efecto de los medios de tuberización sobre el peso total de microtubérculos de 7 cultivares de papa	30
Tabla 11. Prueba de comparación múltiple de medias de Waller-Duncan para la variable peso total de microtubérculos provenientes de 7 cultivares de papa	31
Tabla 12. Efecto de los medios de tuberización sobre la variable peso promedio de microtubérculos de 7 cultivares de papa	31
Tabla 13. Prueba de comparación múltiple de medias de Waller-Duncan para la variable peso promedio de microtubérculos provenientes de 7 cultivares de papa	32
Tabla 14. Efecto de los medios de tuberización sobre el peso total de microtubérculos provenientes de 7 cultivares de papa	32

Tabla 15.	Análisis de varianza del rompimiento de la dormancia en la magenta (antes de la cosecha) en los cultivares Papa Blanca, CIP 705160 y CIP 705177	47
Tabla 16.	Efecto del genotipo en el rompimiento de la dormancia de los microtubérculos en la magenta (antes de la cosecha)	47
Tabla 17.	Porcentaje de brotación a los 30 días y sobrevivencia a los 60 días, de los microtubérculos inoculados en el medio de conservación	49
Tabla 18.	Análisis del crecimiento de las plántulas a los 6 meses en el medio de conservación, mediante la prueba no paramétrica de Friedman	49

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Producción de microtubérculos del genotipo Papa Blanca (<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>) a los 120 días de inducción	33
Figura 2. Producción de microtubérculos del genotipo Piñaza (<i>S. juzepczukii</i>) a los 90 días de inducción	34
Figura 3. Producción de microtubérculos del genotipo CIP 705160 (<i>S. phureja</i>) a los 120 días de inducción	35
Figura 4. Producción de microtubérculos del genotipo CIP 705177 (<i>S. phureja</i>) a los 120 días de inducción	36
Figura 5. Producción de microtubérculos del genotipo Talón Seguro (<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>) a los 120 días de inducción	37
Figura 6. Producción de microtubérculos del genotipo Ccoe Obispo (<i>S. chaucha</i>) a los 90 días de inducción	38
Figura 7. Producción de microtubérculos del genotipo Lucki Morada (<i>S. curtilobum</i>) a los 90 días de inducción	39
Figura 8. Inducción de microtubérculos del cultivar Papa Blanca (<i>S. tuberosum subsp. tuberosum</i>) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%)	40
Figura 9. Inducción de microtubérculos del cultivar Piñaza (<i>S. juzepczukii</i>) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%)	41
Figura 10. Inducción de microtubérculos del cultivar CIP 705160 (<i>S. phureja</i>) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%)	42
Figura 11. Inducción de microtubérculos del cultivar CIP 705177 (<i>S. phureja</i>) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%)	43
Figura 12. Inducción de microtubérculos del cultivar Talón Seguro (<i>S. tuberosum subsp. andigena</i>) en 11 medios de cultivo (medio control: Sucrosa 8%)	44

Figura 13.	Efecto de la interacción medios de tuberización con la temperatura de almacenamiento sobre el brotamiento de los microtubérculos de las variedades Papa Blanca (A) y Piñaza (B)	48
Figura 14.	Uso de los microtubérculos para la conservación <i>in vitro</i> de papa	50

ANEXOS

ANEXO 1: GLOSARIO

ABA: ácido abscísico, ácido [S-(Z,E)]-5(1-hidroxi-2,6-trimetil-4-oxo-2-ciclohexeno-1-il)-3-metil-2,4-pentadienoico, C₁₅H₂₀O₄, peso molecular: 264.31.

Accesión (entrada): (1) cada una de las colectas o muestras obtenidas en el proceso de colección de germoplasma, debidamente identificadas; (2) muestra de una variedad, línea o población en cualquiera de sus formas reproductivas semilla, cormo, tubérculo, vareta, estaca, entre otros; que entra a un centro de recursos genéticos para su conservación o utilización.

Agar: polisacárido gelatinoso obtenido del alga *Gelidium corneum* u otras algas rojas. Es un agente solidificante que mezclado con el medio nutritivo (0.6 a 1%) forma un gel que permite el crecimiento de plantas.

Apical: localizado en el ápice. La yema apical es el explante que comúnmente se usa en cultivo de tejidos vegetales.

Axilar: localizado en la axila ; como yema que se encuentra en la axila de la hoja.

BAP o BA: 6-bencil amino purina, N-(fenilmetil)-1H-purina-6 amino.

Banco de Germoplasma: lugar específico y acondicionado, donde se reciben, registran, conservan y se mantienen viables las diversas accesiones o entradas, provenientes de las colectas realizadas en las zonas de diversidad genética o provenientes de otras colecciones.

Basal: situado en la base de la planta.

CEPA: ácido 2-cloroetil fosfónico

Clon: población o conjunto de individuos idénticos, formado multiplicando asexualmente (vegetativamente) a un mismo organismo.

Conservación de germoplasma: preservación de especies, poblaciones o muestras de plantas cultivadas, semicultivadas o silvestres (*in situ* o *ex situ*).

Conservación In situ: mantenimiento de la variabilidad genética en forma de poblaciones por un largo plazo en su lugar de evolución natural o con influencia humana.

Conservación Ex-situ: conservación de recursos genéticos, fuera de su habitat original, mediante la formación de bancos de germoplasma, ya sea por medio de la conservación de individuos completos o de aquellas estructuras que posibiliten su regeneración (semillas, estacas, tubérculos, raíces, rizomas, tejidos, polen, etc.)

Cultivo In Vitro: cultivo de partes de vegetales (“explantes”) en medios nutritivos sintéticos y en ambiente acondicionado, con el objeto de regenerar plantas completas (principalmente)

Cultivar: un grupo de plantas cultivadas (a veces un clon) que se distingue de las especies por un carácter agronómico u hortícola que se perpetúa cuando las plantas son propagadas ya sea sexual o asexualmente.

Especie: categoría intragenérica (o subgenérica) formada por grupo de individuos con muchas características morfológicas semejantes.

Estolón: brote lateral más o menos delgado a menudo muy largo, que nace en la base de los tallos, tanto si se arrastran sobre la superficie del suelo como si se desarrollan debajo de él y que, enraizando y muriendo en las porciones intermedia engendra nuevos individuos y propaga vegetativamente la planta. En papa forman tubérculos en su extremo.

Fasciación: anomalía que consisten en la unión de órganos que se encuentran próximos formando uno solo (tallos, pedúnculos, frutos, infrutescencias).

Fenotipo: (1) conjunto de caracteres aparentes, que diferencian a un individuo de otros en un medio dado; (2) determinado conjunto de caracteres o grupo de individuos con caracteres externos comunes; resultado de la interacción de factores hereditarios y ambientales; (3) expresión del genotipo en la naturaleza.

Fotoperíodo: número de horas de luz (y de oscuridad) en el día, el cual está en función a la latitud y la época del año.

Genotipo: constitución genética de un organismo. Su información genética (sus genes) y su potencial hereditario. El genotipo determina el rango de respuestas fenotípicas que posee un organismo con relación a su ambiente.

Germoplasma: conjunto de material genético de una especie, o de un conjunto de especies, razas, grupos, individuos, etc. que puede ser mantenido en un repositorio. Patrimonio genético, ubicado tanto en las células sexuales o germinativas como en las somáticas o vegetativas de las poblaciones naturales o antropogénicas que nos permiten la reproducción, evolución y utilización de los caracteres de interés agronómico.

Medio Basal: se refiere a la formulación fundamental del medio.

Mutación somática: cuando el cambio de un gen se presenta en una célula somática en el ápice de crecimiento de una rama, bulbo u otro órgano vegetativo, las células derivadas de ellas llevan la nueva estructura genética.

Pool de Genes: conjunto de toda la diversidad genética de una especie, susceptible de ser utilizada para el mejoramiento.

Propágulo: material vegetativo de propagación o multiplicación de una planta.

Recurso genético: el bien o el medio potencial (recurso) que se encuentra en los genes (genético).

Recurso Fitogenético: variabilidad genética potencialmente útil en agronomía, presente en las plantas cultivadas, como en sus especies silvestres relacionadas.

Reproducción Asexual, Vegetativa o Clonal: reproducción de plantas que no incluye la unión de gametos (fecundación) y que generalmente se da por medio de la división de células vegetativas.

Variedad: grupo de plantas cultivadas dentro de una especie que se distingue de otro grupo (variante) por uno o varios caracteres, que pueden ser morfológicos, fisiológicos o bioquímicos u otro, y que cuando se reproduce mantiene esta característica(s) que lo distingue.