

Obtención de microtubérculos y minitubérculos como semilla pre-básica en tres cultivares peruanos de papa

María de Lourdes Tapia y Figueroa¹, José Carlos Lorenzo², Osbel Mosqueda², Maritza Escalona²

¹Laboratorio de Biotecnología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Ave La Molina s/n, La Molina. Lima. Perú. CP 12056. e-mail: Itapia@lamolina.edu.pe

²Centro de Bioplantitas, Universidad de Ciego de Ávila. Carretera a Morón km 9. Ciego de Ávila. Ciego de Ávila. Cuba. e-mail: mescalona@bioplantitas.cu

RESUMEN

En los programas de certificación de la semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.), el empleo de plantas *in vitro*, microtubérculos y minitubérculos como semilla pre-básica tiene gran importancia. Especialmente, en países como Perú existe la necesidad de erradicar la producción informal de semilla para fomentar nuevas plantaciones. El presente trabajo tuvo como objetivo obtener microtubérculos y minitubérculos de tres cultivares de papa peruanos ('Canchan', 'Capiro' y 'Papa3'). Al comparar el efecto de ambos factores (método de obtención y cultivar) en el número de semilla por planta se pudo constatar que con excepción del cultivar 'Capiro', no se encontraron diferencias entre ambos métodos de producción de semilla para el resto de los cultivares. Este resultado es de gran importancia ya que evidencia que es posible utilizar ambos métodos de semilla pre-básica para los cultivares 'Canchan' y 'Papa3'. En el cultivar 'Capiro' a pesar de que se logró un mayor número de minitubérculos por planta su baja masa fresca pudiera impedir su uso como semilla básica. Se requieren otros estudios que permitan ajustar las condiciones de cultivo para lograr mejores resultados en este cultivar.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, genotipo, tubérculos, semilla certificada

Obtention of microtubers and minitubers as pre basic seed in tree Peruvian potato cultivars

ABSTRACT

In potato (*Solanum tuberosum* L.) seed certification programs, the use of *in vitro* plants, microtubers and minitubers as pre-basic seed are of great importance, especially in countries such as Peru, where there is a need to eradicate the informal production of the seed to promote new plantations. The present work had as objective to obtain of microtubers and minitubers as pre-basic seed in three Peruvian potato cultivars. When comparing the effect of both factors (method and cultivar) in the number of seeds per plant it was possible to state that with the exception of the cultivar 'Capiro', no differences were found between both methods of seed production for the rest of the cultivars. This result is very important since it shows that it is possible to use both methods of pre-basic seed production for cultivars 'Canchan' and 'Papa3'. In the cultivar 'Capiro' a greater number of minitubers was achieved per plant, but its low fresh mass, which could prevent its use as a basic seed. Other studies are required to adjust the culture conditions to achieve better results in this cultivar.

Keywords: certified seed, genotype, *in vitro* techniques

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta tuberosa que se encuentra entre los principales cuatro cultivos en el mundo de importancia para la alimentación.

En Perú, los productores cultivan cuatro especies de papa, *Solanum tuberosum* más otras tres exclusivas de los Andes. Es el principal cultivo en área de superficie sembrada y se cultiva tanto en la sierra como en la costa (Egúsqiza 2014). El país ocupa

el lugar 18 entre los principales países consumidores con un 78.4 kg per cápita. La producción del tubérculo se incrementó de 4 704 987 millones de toneladas en el 2004 a 7 704 987 en el 2014 (FAOSTAT, 2015).

En Perú, el cultivo de la papa representa el 25% del producto interno bruto (PIB) agrícola, y se cultiva en 19 de los 24 departamentos del país. Sin embargo, los agricultores solo usan alrededor del 0.2% (1 145 toneladas) de semilla certificada. Es decir que los pequeños productores continúan plantando el tubérculo semilla adquiridos a través de los sistemas 'informales de semilla' los cuales tienen un pobre estatus sanitario lo que conduce a una reducción significativa de los rendimientos (Egúsquiza, 2014).

El cultivo de la papa tiene varias limitaciones, tales como el ataque de plagas, susceptibilidad a altas temperaturas, salinidad del suelo, a la sequía y al encharcamiento. Sin embargo, la calidad del material vegetal de propagación es uno de los principales retos para los productores de este tubérculo a nivel mundial. Entre sus dificultades se encuentra la degeneración que presenta la semilla por la acumulación de patógenos y enfermedades en el material de plantación provocado por sucesivos ciclos de propagación vegetativa que afectan los rendimientos y calidad del cultivo. En los países desarrollados este problema ha sido revertido por el uso frecuente de la semilla certificada (Sharma-Thomas *et al.*, 2015).

La producción *in vitro* de semilla de papa es muy conveniente, ya que las plántulas se manipulan con mayor facilidad para erradicar algún patógeno presente en el tejido. La semilla pre-básica (calidad genética y fitosanitaria) se obtiene a partir de plantas *in vitro* que se originan del cultivo de meristemos y estas pueden ser utilizadas directamente para la producción de minitubérculos (*ex vitro*) o para la formación de microtubérculos (*in vitro*). En los programas de producción de semilla su aplicación ha contribuido a incrementar la eficiencia y el rendimiento agrícola del cultivo (Agramonte, 1999; Struik y Lommen, 1999; Rokka *et al.*, 2014; Sharma-Thomas *et al.*, 2015; Hossain *et al.*, 2017).

El empleo de las plantas *in vitro*, es la técnica que más se utiliza por los productores aun

cuando el método es laborioso, consume tiempo, mayor utilización de mano de obra y es más costoso. Este método depende también de la época estacional porque un número requerido de plantas *in vitro* se necesitan para lograr en un tiempo determinado la producción de los minitubérculos (Igarza *et al.*, 2012; Rokka *et al.*, 2014).

El uso de microtubérculos es más efectivo ya que facilita la manipulación, almacenaje, transporte y además se pueden producir durante todo el año (Ranalli *et al.*, 1994; Doobránszki *et al.*, 2008). Además, tienen como ventaja la rápida multiplicación en un corto período de tiempo para obtener la primera generación de la semilla. Los microtubérculos son adecuados para la conservación de germoplasma, la distribución e intercambio internacional de material vegetal de propagación libre de enfermedades (Donnelly *et al.*, 2003; Ranalli, 2007).

El empleo de la técnica de inmersión temporal para producir microtubérculos de papa, es uno de los últimos aportes que se han obtenido en la propagación de este cultivo (Akita y Takayama, 1994; Jiménez *et al.*, 1999; Teisson y Alvard, 1999; Chun *et al.*, 2003; Grigoriadou y Leventakis, 2003; Piao *et al.*, 2003; Nhut *et al.*, 2006; Ebadi *et al.*, 2007; Montoya *et al.*, 2008; Kamarainen-Karppinen *et al.*, 2010; Rahman *et al.*, 2015), así como la factibilidad de los microtubérculos para su plantación directa en el campo (Pérez-Alonso *et al.*, 2001; Igarza *et al.*, 2014).

Existe poca información sobre cómo influye el método de obtención de la semilla pre-básica en la masa fresca y el número de tubérculos por planta en dependencia del cultivar. Uno de los factores que afecta la calidad de los microtubérculos tanto en medio de cultivo semisólido como con el uso de la inmersión temporal es el diámetro o calibre y la masa fresca pues ambos tienen marcada influencia en los resultados cuando se han empleado para la obtención de minitubérculos (Hossain *et al.*, 2017).

En Perú se destacan por su importancia los cultivares 'Canchan', 'Capiro' y 'Papa3' obtenidos por mejoramiento genético en el Centro Internacional de la Papa en el país. 'Canchan' es adaptable a costa y sierra con buena calidad comercial, 'Capiro' es excelente

para el procesamiento industrial y el cultivar 'Papa3' todavía en estudio para su explotación comercial pero con resistencia a *Phytophthora* (Egúsqiza, 2014). Sin embargo, no hay antecedentes de la obtención de microtubérculos y minitubérculos en dichos cultivares en Perú.

Se conoce que son dos sistemas diferentes pero que ambos se pueden emplear para obtener tubérculos en casa de cultivo o campo. No obstante, los microtubérculos se obtienen en menor tiempo y a menor costo que los minitubérculos, es por ello que al comparar ambos sistemas de producción de semilla pre-básica se podría conocer qué vía es más efectiva en dependencia del cultivar. Este trabajo tuvo como objetivo obtener microtubérculos y minitubérculos de papa de tres cultivares peruanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicada en Lima, Perú en estrecha colaboración con el Centro Internacional de la Papa ubicado también en esa localidad.

Material vegetal

En los experimentos se utilizaron plantas *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.) de tres cultivares ('Canchan', 'Capiro' y 'Papa3') las cuales se obtuvieron a partir del cultivo de meristemos en el Centro Internacional de la Papa (CIP).

En todos los experimentos se empleó la composición basal del medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) modificado por Espinoza *et al.* (1991). La modificación consistió en el empleo de nitrato de amonio (1 750 mg l⁻¹), nitrato de potasio (2 000 mg l⁻¹), cloruro de calcio (450 mg l⁻¹), fosfato (175 mg l⁻¹), tiamina (0.4 mg l⁻¹), glicina (2.0 mg l⁻¹), ácido nicotínico (0.5 mg l⁻¹), piridoxina (0.5 mg l⁻¹), pantotenato de calcio (2 mg l⁻¹), ácido fólico (1 mg l⁻¹) y arginina (4 mg l⁻¹). Al medio de cultivo se le adicionó mio-inositol (100 mg l⁻¹). La concentración de sacarosa, a excepción de los experimentos de microtuberización, fue de 30 g l⁻¹. El pH de los medios de cultivo se ajustó a 5.8 antes de la esterilización en autoclave a 121°C y

1.2 kg cm⁻². El tiempo de esterilización estuvo en dependencia del volumen del medio de cultivo (Burger, 1988).

Cultivo de segmentos nodales en medio de cultivo semisólido

Las plántulas provenientes de meristemos con una altura aproximada de 15 cm y 1.5 mm de diámetro se seccionaron en segmentos nodales con una yema (un nodo). Las plantas se transfirieron a medio de cultivo fresco cada 21 días. Las condiciones de cultivo fueron de un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 oscuridad con lámparas fluorescentes (25-30 μmol m⁻² s⁻¹) a 22 ± 0.2°C.

Obtención de microtubérculos

Los microtubérculos (semilla pre-básica) se obtuvieron en BIT® (4 litros de capacidad) (Escalona *et al.*, 1999). Se inocularon 50 explantes (segmentos con dos nodos procedentes de un tercer subcultivo en medio de cultivo semisólido) (Figura 1), volumen de medio de cultivo/explante de 15 ml, tiempo y frecuencia de inmersión de 4 min cada 3 horas durante 28 días con un fotoperíodo de 16 h luz/ 8 oscuridad con el empleo de lámparas fluorescentes (25-30 μmol m⁻² s⁻¹). La microtuberización se indujo en el propio BIT® para lo cual el frasco que contenía el medio de cultivo se reemplazó por otro con el medio de cultivo fresco de igual composición pero que contenía 80 g l⁻¹ de sacarosa. El volumen de medio de cultivo que se empleó fue de 1.5 litros (30 ml/explante) y el tiempo y frecuencia de inmersión de 4 minutos cada 3 horas (8F/día), tiempo de cultivo de 60 días en la oscuridad a 22 ± 0.2°C.

Luego de concluido el proceso de tuberización los microtubérculos se separaron cuidadosamente de los residuos de plantas y raíces, se enjuagaron con agua corriente para eliminar el medio de cultivo y se colocaron en bandejas sobre papel de filtro para eliminar la humedad.

Obtención de minitubérculos

De los tres cultivares se emplearon plantas *in vitro* provenientes de un tercer subcultivo de multiplicación en medio de cultivo semisólido en frascos de 250 ml de capacidad con 30 ml de medio de cultivo. En cada frasco se

cultivaron 25 segmentos nodales de dos nodos cada uno (Figura 1). La composición del medio de cultivo fue la misma que se describió anteriormente, MS (Murashige y Skoog, 1962) modificado por Espinoza *et al.* (1991). Las condiciones de cultivo fueron las descritas anteriormente. Las plantas *in vitro* con 7 cm de longitud se enjuagaron con agua corriente para eliminar el agar y se pusieron en contacto con una solución de Benomil (1 g l^{-1}) durante 10 minutos y posteriormente se enjuagaron con abundante agua corriente, se escurrieron y se llevaron al invernadero.

Para la formación de minitubérculos, las plantas obtenidas *in vitro* se aclimatizaron en bandejas que contenían sustrato estéril de importación PREMIX-3 (Sungro Horticulture Inc.) y se colocaron bajo un túnel cubierto de plástico con una humedad relativa alta (90%) durante 30 días. Posteriormente, las plantas se trasplantaron a bolsas con sustrato estéril de la misma composición y se mantuvieron por tres meses en el invernadero (humedad relativa media del 50%). Durante este período se realizaron aplicaciones de Benomil a intervalos de 15 días y se fertilizó con una solución de Byfolan (Bayer) (1 ml l^{-1}) en ese mismo tiempo de forma intercalada. A los 30 días de trasplantadas a bolsa, se agregó nuevamente sustrato PREMIX- 3 como un

aportador para la iniciación de los estolones. A los 90 días del trasplante a las bolsas se procedió a la cosecha de los minitubérculos. En el experimento se plantaron un total de 100 plantas *in vitro* por cada cultivar.

Para ambos tipos de semilla pre-básica (minitubérculos y microtubérculos) se evaluaron el número de tubérculos por planta (semilla) y su masa fresca (g) para cada uno de los cultivares. La masa fresca se determinó en Balanza Analítica Sartorius.

Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó con el uso del utilitario SPSS versión 11.5. Los análisis para las diferentes variables se realizaron a través de una prueba ANOVA bifactorial donde se consideraron como factores el sistema de obtención de semilla (microtubérculos y minitubérculos) y el cultivar, como análisis paramétricos, y se siguieron de una prueba de Tukey para un 5%. Los datos de variables discretas (número de tubérculos) se transformaron con la ecuación $y' = (y+0.5)^{0.5}$. Posteriormente se demostró la distribución normal y homogeneidad de varianza según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (5%) y Levene (5%), respectivamente. El diseño fue completamente aleatorizado.



Figura 1. Segmento nodal de papa con dos nudos cada uno (una yema axilar) que se empleó para la formación de microtubérculos en el BIT®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones experimentales *in vitro* en los BIT y en el invernadero permitieron la obtención de microtubérculos y minitubérculos de papa de los cultivares 'Canchan', 'Capiro' y 'Papa3'. Los tubérculos mostraron las características típicas descritas para cada cultivar (Figura 2). El número de microtubérculos por BIT osciló entre 290 y 390.

Se comprobó que la vía de obtención de la semilla pre-básica a partir del cultivo *in vitro* (microtubérculos y minitubérculos) tuvo efecto sobre el número de tubérculos por planta (Figura 3 A) en dependencia del cultivar en las condiciones experimentales ensayadas. Se observó que en los cultivares 'Canchan' y 'Papa3' no se encontraron diferencias significativas al comprar ambos métodos, solo en el cultivar 'Capiro' el número de minitubérculos por planta fue significativamente superior (13) al número de minitubérculos por planta (6.5) (Figura 3 A).

La masa fresca de los tubérculos en los cultivares 'Canchan' y 'Papa3' fue significativamente superior en los minitubérculos con valores promedio de 9.5 a 10.5 g. Sin embargo, en el cultivar 'Capiro' la masa fresca fue mayor en los microtubérculos en comparación con los minitubérculos (Figura 3 B) posiblemente debido al mayor número de unidades por planta.

En general, entre las vías que se emplean para producir semilla pre-básica de papa se encuentran los microtubérculos o mediante la formación de minitubérculos en invernaderos a partir de plantas *in vitro* (Jiménez *et al.*, 1999; Igarza *et al.*, 2012). Al comparar el

efecto de ambos factores (método de obtención y cultivar) en el número de semillas por planta se pudo constatar que con excepción del cultivar 'Capiro', no se encontraron diferencias entre ambos métodos de producción de semilla para el resto de los cultivares. Este resultado es de gran importancia ya que evidencia que es posible obtener tanto microtubérculos como minitubérculos como semilla pre-básica para los cultivares 'Canchan' y 'Papa3'. En el cultivar 'Capiro' a pesar de que se logró un mayor número de minitubérculos por planta su baja masa fresca pudiera limitar su uso como semilla básica. Se conoce que esta variable tiene gran importancia junto con el calibre en un programa de semilla (Montoya *et al.*, 2008). Se requieren otros estudios que permitan ajustar las condiciones de cultivo para lograr mejores resultados en este cultivar.

Una de las ventajas que se tiene al emplear microtubérculos en comparación con minitubérculos es que en el tiempo empleado para su formación en los BIT® puede ser menor que para obtener minitubérculos en el invernadero. En este estudio se emplearon 88 días para obtener microtubérculos (28 días en la multiplicación de los segmentos nodales y 60 días en la microtuberización) y 120 días para minitubérculos. Este resultado está en correspondencia con lo informado en la literatura precedente aunque debe destacarse que se empleó un sustrato estéril. En este sentido, Badoni y Chauhan (2010) informaron la producción de minitubérculos como una fuente de semilla pre-básica de papa y las plantas *in vitro* produjeron minitubérculos en invernadero después de 70-115 días de crecimiento en el sustrato, con diámetros entre 9 y 15 mm.



Figura 2. Microtubérculos de papa de los tres cultivares utilizados en el presente estudio. 'Canchan' (A), 'Capiro' (B), 'Papa 3' (C).

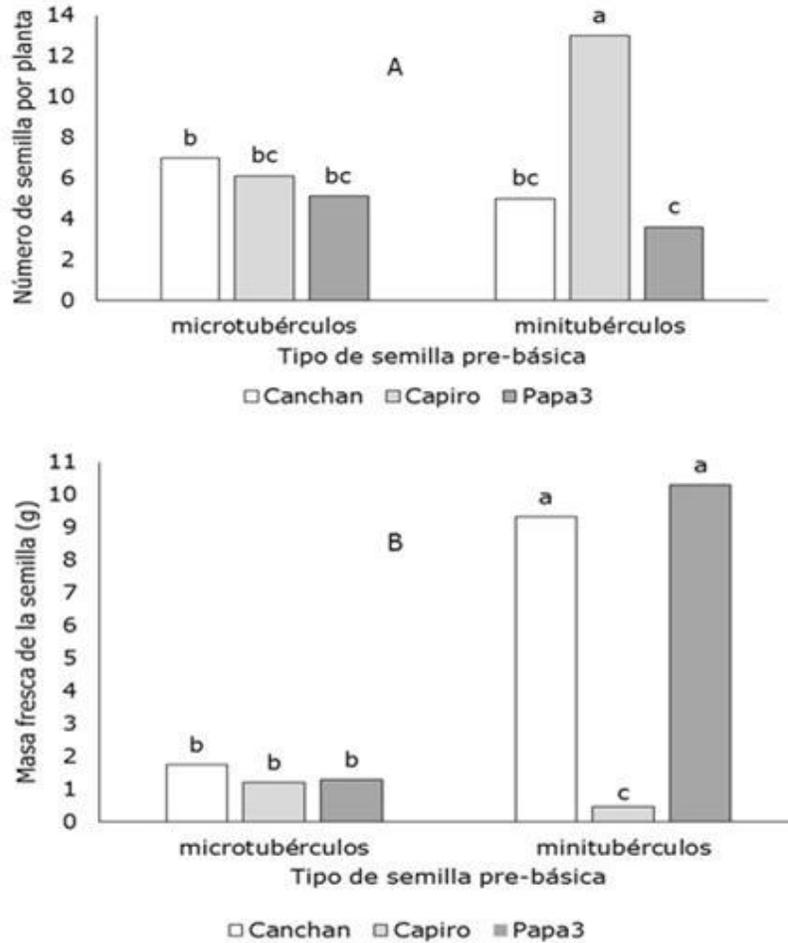


Figura 3. Semilla pre-básica de tres variedades de papa procedentes de Biorreactor de Inmersión Temporal (microtubérculos) y de plantas *in vitro* en invernadero (minitubérculos) en el número (A) y la masa fresca de la semilla (B). En cada figura, letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas según la prueba de Tukey $p < 0.05$). El número de semilla se transformó: $y' = (y)^{0.5}$. Media general: 6.19 y 4.3 g; Error estándar: 1.18 y 1.5 g.

En general la producción de minitubérculos está determinada también por el genotipo (Venkatasalam *et al.*, 2011). Los cultivares difieren ampliamente en su capacidad para producir minitubérculos, algunos son más prolíferos que otros (Sharma *et al.*, 2013). Resultado similar se obtuvo en 'Capiro' en comparación con los cultivares 'Canchan' y 'Papa3'.

En la obtención de semilla pre-básica en el Biorreactor de Inmersión Temporal también se han encontrado diferencias en el número y masa fresca de los microtubérculos asociado con el genotipo. Por ejemplo, Teisson y Alvard (1999) informaron diferencias en la microtuberización de tres cultivares de papa

en el sistema doble RITA. El número de microtubérculos/biorreactor estuvo en el rango de 48 en 'Desirée', 52 en 'Bintje' y 68 en 'Ostara'. Por otra parte, Kamarainen-Karppinen *et al.* (2010), evaluaron cuatro cultivares de papa y encontraron que el número de microtubérculos/biorreactor varió entre 30 en 'Asterix' y 75 en 'Velox'. En el presente trabajo, con el empleo de un BIT® de 4 litros de capacidad y la inoculación de 50 explantes, el número de microtubérculos por biorreactor en los tres cultivares en estudio osciló entre 290 y 390, superior a lo informado previamente.

De igual forma, Jiménez *et al.* (1999) evaluaron la microtuberización de dos cultivares de papa

en un Sistema de Inmersión Temporal (SIT) de 10 litros de capacidad y el número de microtubérculos/planta fue de 3.1 y 2.8 para 'Desirée' y 'Atlantic', respectivamente. En el cultivar 'Andinita', Igarza *et al.* (2011) en un SIT similar de 10 litros de capacidad, lograron un promedio de 5 microtubérculos/planta, con un calibre de 4 mm, y masa fresca promedio de 3 g. El número de microtubérculos/planta en los cultivares 'Canchan', 'Capiro' y 'Papa3' fue de 7, 6 y 5.8, respectivamente, superior a los previamente informado por dichos autores.

Otros autores han informaron variaciones para el número de minitubérculos por planta y su masa fresca en diferentes cultivares. Ozkaynak y Samanci (2005) refirieron que la formación de minitubérculos en el campo, invernaderos y en camas de semillas de tres cultivares de papa ('Marabel', 'Velox' y 'Concorde'), estuvo influenciada por el genotipo. El mayor número de tubérculos se obtuvo en el cultivar 'Marabel' (7 tubérculos/planta), así como la masa fresca (8.2 g). En general los mayores indicadores del rendimiento se obtuvieron cuando los minitubérculos se formaron en invernaderos, donde, además, el 80% tuvieron masa fresca mayor de 4 g. Resultados similares obtuvieron Sattarzadeh *et al.* (2012) en los cultivares de papa 'Agrida', 'Marfona' y 'Savalan'. En la producción de minitubérculos no se encontraron diferencias en la brotación pero sí en la longitud de los tallos y en el número de tubérculos por planta, en esta última variable, los valores fueron de 5.15 en 'Agrida', 12 en 'Marfona' y 10.35 para 'Savalan'. Estos investigadores señalaron que las principales diferencias estuvieron más influenciadas por el genotipo que por las condiciones de crecimiento y ambientales.

Además del genotipo, el vigor de las plantas *in vitro* es uno de los factores que influye en las variaciones que se obtienen en la producción de minitubérculos (Sharma y Pandey, 2013) así como el tipo y concentración de reguladores de crecimiento que se utilice en el cultivo *in vitro* (Kianmehr *et al.*, 2012). Sin embargo, en estos resultados se destaca que para los tres cultivares en estudio, desde el establecimiento *in vitro* de los meristemas hasta el crecimiento de las plantas se utilizó el medio de cultivo sin reguladores del crecimiento, aspecto éste que puede haber incidido de manera positiva en los resultados.

La introducción de microtubérculos y minitubérculos en el programa de producción de semilla de papa ha revolucionado la producción de este cultivo, resultando en un acortamiento del ciclo de producción en el campo para obtener un adecuado número de semillas y por lo tanto garantiza una mayor calidad fitosanitaria del material vegetal de plantación (Wróbel, 2014). La obtención de semilla pre-básica en estos cultivares por métodos biotecnológicos podría tener un impacto en los programas de producción del tubérculo en el país. Sin embargo, evaluar el efecto de ambos tipos de semilla pre-básica en la calidad de la primera generación vegetativa en campo (semilla Básica 1) para los tres cultivares es importante, aspecto este que se tendrá en cuenta para futuros estudios.

CONCLUSIONES

El empleo de dos métodos de producción de semilla pre-básica en tres cultivares de papa peruanos permite obtener microtubérculos en Biorreactores de Inmersión Temporal y minitubérculos a partir de plantas *in vitro*. Estos resultados sientan las bases para la producción de semilla por métodos biotecnológicos y para eliminar la producción informal de semilla. Para continuar los estudios se deben tener en cuenta otros indicadores de calidad de la semilla como el diámetro y la masa seca así como evaluar otros cultivares.

REFERENCIAS

- Agramonte D (1999) Métodos biotecnológicos para la producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis de doctorado, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba
- Akita M, Takayama S (1994) Stimulation of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization by semicontinuous liquid medium surface level control. Plant Cell Reports 13: 184-187; doi: 10.1007/BF00239889
- Badoni A, Chauhan JS (2010) Importance of potato micro tuber seed material for farmers of Uttarakhand Hills. International Journal of Sustainable Agriculture 2(1): 1-9
- Burger D (1988) Guidelines for autoclaving liquid media used in plant tissue culture. HortScience 23: 1066-1068

- Chun X, Chakrabarty D, Joo E, KP Y (2003) A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system. *Current Science* 84(8): 1129-1132
- Donnelly DJ, Coleman WK, Coleman SE (2003) Potato microtuber production and performance. A review. *American Journal Potato Research* 80(2): 103-115; doi: 10.1007/bf02870209
- Doobránszki J, Magyar-Tábori K, Hudák I (2008) *In vitro* tuberization in hormone-free systems on solidified medium and dormancy of potato microtubers. *Fruit, Vegetable and Cereals Science and Biotechnology* 2(1): 82-94
- Ebadi M, Iranbakhsh A, Bakhshi-Khaniki G (2007) Shoot micropropagation in potato (*Solanum tuberosum* L.) by the semi-continuous bioreactor. *Pakistan Journal of Biologucal Sciences* 10(6): 861-867
- Egúsqüiza BR (2014) La papa en el Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú; ISBN: 978-612-4147-39-5
- Escalona M, Lorenzo JC, González B, Daquinta M, L. GJ, Y. D, Borroto CG (1999) Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports* 18: 743-748
- Espinoza N, Lizarraga R, Siguenas C, Buitrón F, Dodds JH (1991) Cultivo de tejidos: Micropropagación, conservación y exportación de germoplasma de papa. CIP, Lima
- FAOSTAT (2015) The top 5 countries that produce the most potatoes. Disponible en: <http://www.potato2008.org>. Consultado 18/01/2017
- Grigoriadou K, Leventakis N (2003) Comparative use of a comercial biorreactor system and conventional micropropagation for the production of potato microtubers and grape myrtle (*Lagerstroemia indica*) microshoots. *Acta Horticulturae* 616: 369-371; doi: 10.17660/ActaHortic.2003.616.55
- Hossain SM, Hossain MM, Haque MM, Haque MM, Sarkar MD (2017) Varietal evaluation of potato microtuber and plantlets in seed tuber production. *Journal of Agronomy* 2017: 1-5; doi: 10.1155/2017/7520297
- Igarza J, Agramonte D, de Feria M, Jaime J, Pérez M, san Roman M (2011) Obtención de microtubérculos de papa cv 'Andinita' en Sistemas de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal* 11(1): 59-62
- Igarza J, Agramonte D, Alvarado Y, De Feria M, Pugh T (2012) Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. *Biotecnología Vegetal* 12(1): 3-24
- Igarza J, De Feria M, Alvarado Y, Pugh T, Pérez M, San Roman M, Agramonte D (2014) Caracterización morfo-agronómica de plantas de papa cv. 'Andinita' a partir de la siembra en campo de microtubérculos obtenidos en Sistemas de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal* 14(2): 81-89
- Jiménez E, Pérez N, De Feria M, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E, Pérez JC (1999) Improved production of potato microtubers using temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59: 19-23; doi: 10.1023/A:1006312029055
- Kamarainen-Karppinen T, Virtanen E, Rokka VM, Pirttila AM (2010) Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. *Plant Cell Tiss Organ Culture* 101: 245-249; doi: 10.1007/s11240-010-9679-7
- Kianmehr B, Otroshy M, Parsa M, Mohallati MN, Moradi K (2012) Effect of plant growth regulation during *in vitro* phase on potato minituber production. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4(15): 1060-1067. ISSN 2227-670X
- Montoya N, Castro D, Díaz J, Ríos D (2008) Tuberización *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Diacol Capiro en Biorreactores de Inmersión Temporal y evaluación de su comportamiento en campo. *Ciencias* 16: 288-295
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-494
- Nhut DT, Nguyen NH, Dang TTT (2006) A novel *in vitro* hydroponic culture system for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber production. *Scientia Horticulturae* 110: 230-234; doi: 10.1016/j.scienta.2006.07.027

- Ozkaynak E, Samanci B (2005) Yield and yield components of greenhouse, field and seed bed grown potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets. Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi 18: 125-129
- Pérez-Alonso N, de Feria M, Jiménez E, Capote A, Chávez M, Quiala E (2001) Empleo de Sistemas de Inmersión Temporal para la producción a gran escala de tubérculos *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. var. Atlantic y estudio de su comportamiento en campo. Biotecnología Vegetal 1(1): 17-21
- Piao XC, Chakrabaty D, Hahn EJ, Paek KY (2003) A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system. Current Science 84(8): 1129-1132
- Rahman MZ, Shahinul Islam SM, Chowdhury AN, Subramaniam S (2015) Efficient microtuber production in modified nutrient spray bioreactor system. Scientia Horticulturae 192: 369-374; doi: 10.1016/j.scienta.2015.06.014
- Ranalli P, Bassi F, Ruaro G, Del Re P, Dicandilo M, Mandolino G (1994) Microtuber and minituber production and field performance compared with normal tubers. Potato Research 37: 383-391
- Ranalli P (2007) The Canon of Potato Science: 24. Microtubers. Potato Research 50: 301-304; doi: 10.1007/s11540-008-9073-6
- Rokka VM, Kamarainen-Karppinen T, Virtanen E, Pirttila AM (2014) Bioreactor technologies for mass propagation of potato: future prospects. En: Mérillon J M (ed). Bulbous Plants Biotechnology, pp. 37-49. CRC Press, Florida; doi: 10.1201/b16136-4
- Sattarzadeh A, Ali Akbar I, Hossein S (2012) A study on the interaction between seedling density and cultivar on mini-tuber production in greenhouse conditions. Annals of Biological Research 3: 5536-5539
- Sharma-Thomas S, Abdurahman A, Ali S, Andrade-Piedra JL, Bao S, Charkowski AO, Crook D, Kadian M, Kromann P, Struik PC, Torrance L, Garrett KA, Forbes GA (2015) Seed degeneration in potato: the need for an integrated seed health strategy to mitigate the problem in developing countries. Plant Pathology 65: 3-16; doi: 10.1111/ppa.12439
- Sharma A, Venkatasalam E, Kumr V (2013) Potato minituber production during main off crops seasons in high hills of north-western Himalaya. Potato Journal 40: 29-37
- Sharma AK, Pandey KK (2013) Potato mini-tuber production through direct transplanting of *in vitro* plantlets in green of screen houses-A review. Potato Journal 40(2): 95-103
- Struik PC, Lommen WJM (1999) Improving the field performance of micro-minitubers. Potato Research 42: 559-568; doi: 10.1007/bf02358172
- Teisson C, Alvard D (1999) *In vitro* production of potato microtubers in liquid medium using temporary immersion. Potato Research 42: 499-504; doi: 10.1007/BF02358166
- Venkatasalam E, Latawa J, Sharma S, Sharma S, Sharma A, Sharma S, Patial R, Singh S (2011) *In vitro* and *in vivo* performance of potato cultivars for different seed production systems. Potato Journal 38: 149-154
- Wróbel S (2014) Assessment of possibilities of microtuber and *in vitro* plantlet seed multiplication in field conditions Part 1: PVY, PVM and PLRV spreading. Am J Potato Res 91: 554-565; doi: 10.1007/s12230-014-9388-6

Recibido: 22-06-2017

Aceptado: 21-07-2017