

Evaluación de la Eficacia de un Protocolo de Micropropagación en dos Variedades de Papa: *Solanum tuberosum* (Perla Negra) y *Solanum phureja* (Criolla Colombia)

Evaluation of the Efficacy of a Micropropagation Protocol in two Potato Varieties: Solanum tuberosum (Black Pearl) and Solanum phureja (Criolla Colombia)

Giovanni Orlando Cancino Escalante ^a; Cesar Villamizar Quiñones ^b; Susan Cancino ^c

^a Universidad de Pamplona, Facultad Ciencias Básicas, Pamplona, Colombia; gcancino@unipamplona.edu.co

^b Universidad de Pamplona, Facultad Ciencias Agrarias, Pamplona, Colombia; csvillamizar@unipamplona.edu.co

^c Universidad de Pamplona, Investigadora Grupo Biotecnología Vegetal, Pamplona, Colombia; susancancino@hotmail.com

Correspondencia: gcancino@unipamplona.edu.co

Recibido: Enero 24, 2024. Aceptado: Febrero 21, 2024. Publicado: Febrero 21, 2024

Resumen

La calidad de las semillas de papa es esencial para asegurar una producción sostenible y rentable en el departamento de Norte de Santander. Se destaca que la reproducción vegetativa de la papa la expone a diversas enfermedades transmitidas por semillas, lo que gradualmente afecta su calidad. El presente estudio se enfocó en la región de Norte de Santander, Colombia, donde la adopción de la micropropagación se presenta como una alternativa efectiva para la producción prebásica de semillas de papa. La investigación se centró en validar un protocolo de micropropagación aplicándolo a dos variedades específicas de papa: Papa Perla Negra y Papa Criolla Colombia. La validación se llevó a cabo en el laboratorio de cultivos vegetales *in vitro* de la Universidad de Pamplona. En términos estadísticos, no se encontraron diferencias significativas entre las variedades en las variables evaluadas, respaldando así la validez del protocolo. Como conclusión, se destaca que la micropropagación constituye una alternativa efectiva para la producción prebásica de semillas de papa en la región, proporcionando un método eficiente y rápido para generar plantas madre homogéneas y de alta calidad.

Palabras clave: Semilla prebásica papa, Establecimiento *ex vitro*, propagación *in vitro*

Abstract

The quality of potato seeds is essential to ensure sustainable and profitable production in the Norte de Santander department. It is worth noting that the vegetative reproduction of potatoes exposes them to various seed-transmitted diseases, gradually affecting their quality. This study focused on the Norte de Santander region in Colombia, where the adoption of micropropagation is presented as an effective alternative for pre-basic potato seed production. The research aimed to confirm a micropropagation protocol applying it to two specific potato varieties: Papa Perla Negra and Papa Criolla Colombia. The validation took place in the *in vitro* plant tissue culture laboratory at the University of Pamplona. Statistically, no significant differences were found between the varieties in the evaluated variables, thus supporting the validity of the protocol. In conclusion, micropropagation proves to be an effective alternative for pre-basic potato seed production in the region, providing an efficient and rapid method for generating homogeneous and high-quality mother plants.

Keywords: Pre-basic seed potato, *ex vitro* establishment, *in vitro* propagation

1. Introducción

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor rendimiento a nivel mundial y debido a su reproducción principalmente vegetativa, está expuesta a diversas enfermedades que se transmiten a través de las semillas, lo que conduce a una degradación gradual de la calidad de estas con el tiempo. Por lo tanto, es esencial utilizar semillas de alta calidad para asegurar una producción sostenible y rentable. Sin embargo, la disponibilidad de semillas de calidad es una limitación significativa en la producción de papa, especialmente en países en desarrollo [1,2].

En Colombia, un país en vías de desarrollo, la pérdida de rendimiento debido al uso de semillas de papa de baja calidad son un problema relevante. Esto obliga a los agricultores a depender de semillas locales, a pesar de que se ha documentado que las semillas no certificadas pueden reducir la productividad en aproximadamente un 40% [3]. Esta problemática no es exclusiva de Colombia; en la India, por ejemplo, la calidad deficiente de las semillas es un factor importante que contribuye a la disminución de su productividad [4].

Para abordar esta disparidad significativa, se requiere la implementación a gran escala de técnicas de propagación tanto convencionales como de multiplicación rápida, como la micropropagación a nivel comercial. Esta técnica permite

producir una cantidad adecuada de tubérculos-semilla saludables en un período de tiempo mínimo [5].

En este contexto, es fundamental preservar el potencial genético de una variedad o clon mediante la utilización de tubérculos semilla que estén libres de virus [2]. La calidad fitosanitaria de estos tubérculos tiene un impacto directo en el rendimiento del cultivo, lo que subraya la importancia de enfocarse en la producción de semilla prebásica [1, 6].

Es relevante destacar que, en la región de Norte de Santander, Colombia, la adopción de la micropropagación como método para la producción prebásica de semillas de papa se presenta como una alternativa efectiva. La micropropagación, que implica la multiplicación asexual *in vitro*, permite mantener una producción constante de semillas prebásicas de alta calidad, libres de patógenos, durante todo el año. De esta manera, se convierte en un complemento importante para satisfacer la creciente demanda de semillas de calidad en la región. La aplicación de la micropropagación en las etapas iniciales de producción de semillas ha demostrado la capacidad de generar un gran número de plantas de papa en un tiempo muy corto, como se evidenció en un estudio realizado por Naik [7]. Este sistema se caracteriza por su flexibilidad y su capacidad para lograr una alta tasa de multiplicación, como se ha corroborado en investigaciones anteriores [8].

Este estudio forma parte del proyecto titulado "Investigación, vinculación y ampliación de la oferta tecnológica disponible para el mejoramiento productivo del cultivo de papa en los departamentos de Santander y Norte de Santander," financiado por el Sistema General de Regalías, bajo los auspicios del Centro Internacional de la Papa (CIP). El objetivo primordial consistió en la validación del protocolo de micropropagación propuesto por Vollmer et al [9] aplicado en el contexto de dos cepas de papa específicas: *Solanum tuberosum*, comúnmente conocida como Papa Perla Negra, y *Solanum phureja*, denominada como Papa Criolla Colombia. Este procedimiento se considera una fase esencial en el proceso de generación de plantas madre y tubérculos semilla que se encuentren exentos de patógenos. La validación de dicha metodología se desarrolló en las dependencias del laboratorio especializado en cultivos vegetales *in vitro* de la Universidad de Pamplona.

2. Materiales y Métodos

Ubicación

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivos Vegetales *In Vitro* de la Universidad de Pamplona, ubicado en el edificio Simón Bolívar, laboratorio 308, en Pamplona, Norte de Santander. Este laboratorio se encuentra a una altitud de 2410 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Las coordenadas geográficas son $7^{\circ}22'52''\text{N}$ $72^{\circ}38'56''\text{W}$.

Material vegetal

El material vegetal utilizado en este estudio fue suministrado por el Laboratorio de Producción Vegetal de Agrosavia, ubicado en Tibaitatá, Cundinamarca. Se emplearon muestras *in vitro* de *Solanum tuberosum* (variedad Perla Negra) y *Solanum phureja* (variedad Criolla Colombia).

Micropropagación de los materiales

Establecimiento *in vitro*

Ambas variedades de papa fueron sometidas a una micropropagación siguiendo el protocolo establecido por Volmer *et al* [9]. Para la propagación *in vitro* de estas variedades, se extrajeron las plantas de los contenedores utilizando pinzas de cultivo de tejidos de 15 cm de longitud. Posteriormente, se procedió a la remoción del ápice, las hojas y las raíces utilizando una cuchilla de tipo No 10. Estos procedimientos de corte se llevaron a cabo en un entorno de hojas de papel estériles.

Los tallos se fragmentaron en segmentos, cada uno conteniendo una o dos yemas. A continuación, se colocaron dos de estos explantes en un medio de cultivo previamente esterilizado por recipiente, que incluía las sales basales del Medio Murashige y Skoog (MS) [10]. Este medio se suplementó con 2 mg/l de glicina, 100 mg/l de mio-inositol, 0,5 mg/l de ácido nicotínico, 0,5 mg/l de piridoxina HCl, 0,1 mg/l de tiamina HCl, 25 g/l de sacarosa y 6,5 g/l de agar. Los recipientes se cerraron cuidadosamente y se sellaron con envoltura plástica transparente. Es relevante destacar que todos estos procedimientos se llevaron a cabo en una cabina de flujo laminar para garantizar la asepsia.

Los cultivos propagados *in vitro* se ubicaron en una sala de crecimiento de plantas a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. La intensidad lumínica se mantuvo en $85 \pm 20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}$, proporcionada mediante tubos fluorescentes de luz fría tipo led.

Multiplicación *in vitro*

Los explantes inócuos y exentos de contaminación se sometieron a un proceso de subdivisión y se traspararon al medio de cultivo de propagación, el cual estaba compuesto por sales MS [10], complementado con ácido giberélico a una concentración de 0,1 mg/l, con el propósito de inducir la aparición de brotes axilares. Posteriormente se procedió a la subdivisión de los explantes recién formados. Estos fueron luego transferidos a un medio de cultivo de propagación fresco, donde se mantuvieron hasta alcanzar la cantidad de explantes requeridos para cada variedad de papa.

Enraizamiento *in vitro*

Los explantes previamente multiplicados se sometieron a una subdivisión y luego se trasladaron a un nuevo medio de cultivo. Este medio contenía las sales MS [10] debió a que los explantes eran capaces de desarrollar raíces debido a las concentraciones naturales de reguladores del crecimiento que ya poseían.

Los explantes fueron incubados en estas condiciones durante un período de cuatro semanas, manteniendo los mismos valores de temperatura, fotoperíodo e intensidad lumínica que se habían utilizado durante el proceso de multiplicación *in vitro*. Durante este tiempo, se permitió que los explantes continuaran su desarrollo en un entorno controlado que facilitaba la adaptación a las nuevas condiciones de crecimiento sin la necesidad de reguladores del crecimiento adicionales.

Endurecimiento de las propagadas *in vitro*

Cuando las plantas (de las dos variedades de papa) desarrollaron raíces, se eliminó los restos de agar con agua corriente. Las raíces se sumergieron en una solución de agua para eliminar cualquier resto del gelificante y luego se plantaron en bandejas de germinación con 50 alvéolos. Las bandejas contenían una mezcla de turba y micorriza comercial, un kg por bulto de turba. La micorriza comercial incluía esporas de *Glomus* sp., *Acaulospora* sp., *Scutesllospora* sp. y *Entrophospora* sp. con una concentración de 230 esporas viables por gramo de suelo.

Las plantas se mantuvieron en condiciones de cámara húmeda durante un período de 15 días, con una temperatura promedio de 22°C. Después de este período, se comenzó a abrir gradualmente el plástico para adaptar las plantas a su entorno *ex vitro*. Durante cinco semanas de adaptación *ex vitro*, se empleó fertilización foliar semanalmente utilizando una solución que contenía N/P/K/ en una proporción de 10/52/10, además de elementos traza.

Adicionalmente, cada 15 días se aplicó foliarmente una solución que contenía *Trichoderma konigiopsis* Th003 en una concentración de 1×10^6 conidios por mililitro. Este proceso de adaptación permitió a las plantas desarrollarse y prepararse para su crecimiento en condiciones externas al entorno de laboratorio.

Diseño experimental

El objetivo principal de esta investigación fue validar el protocolo de micropropagación propuesto por Vollmer *et al* [9] bajo las condiciones del laboratorio de cultivos vegetales de la Universidad de Pamplona para las variedades de papa Perla Negra y Amarilla Colombia, evaluando las siguientes variables: contaminación, fenolización, número de brotes por explante establecido y porcentaje de plantas obtenidas en condiciones *ex vitro*.

Se efectuaron lecturas dos veces por semana de los explantes de ambas variedades y se analizaron para detectar la presencia de contaminación microbiana. Se registraron los resultados como porcentaje de explantes contaminados. Igualmente se evaluaron muestras de tejido de explantes para verificar la presencia de fenoles, que pudieran ser perjudiciales para el crecimiento. Los resultados se registraron como presencia o ausencia de fenolización. Adicionalmente se contó el número de brotes desarrollados por explante en cada variedad después de un período específico de tiempo (4 semanas). Se registraron los resultados como el promedio de brotes por explante. Finalmente se determinó el porcentaje de plantas obtenidas en condiciones de *ex vitro* en papa var. Amarilla Colombia y perla negra.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis estadístico de los datos recopilados utilizando pruebas apropiadas (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las variedades en términos de contaminación, fenolización, número de brotes y número de plantas establecidas. Se realizaron repeticiones del experimento para garantizar la validez de los resultados y la reproducibilidad del protocolo.

Se empleó el programa estadístico SPSS versión 19. Se realizaron análisis estadísticos de los datos para obtener el valor promedio y valores de dispersión. En caso de diferencias estadísticas entre variedades, se realizó la prueba Tukey de separación de medias, se realizó un análisis de varianza. El modelo estadístico para realizar el ANDEVA fue completamente al azar con efecto anidado o jerárquico [11].

3. Resultados y Discusión

La producción prebásica de semilla de papa de alta calidad representa un elemento crítico y esencial en diversos aspectos de la cadena de producción [6,12]. En el contexto en la región productora de papa en Norte de Santander, se observa un marcado interés en la exploración de sistemas de generación de semilla que combinen eficacia, eficiencia, facilidad de implementación y mantenimiento. Desde esta perspectiva, el sistema validado en este estudio parece cumplir con dichos requisitos y, además, ofrece la ventaja de una producción rápida. Es importante destacar que, en la región de Norte de Santander, Colombia, la adopción de la micropropagación como método para la producción prebásica de semillas de papa se presenta como una alternativa efectiva.



Figura 1. Proceso de micropropagación y establecimiento *ex vitro*: 1. Materiales *in vitro*; 2. Corte de explantes para inducción de brotes; 3. Planta *in vitro*; 4. Planta establecida *ex vitro*; 5. Planta invernadero
Fuente: Autor(es)

Las variables analizadas en los clones de las dos variedades sujetas a estudio demostraron un establecimiento exitoso, siguiendo el procedimiento de micropropagación propuesto por el Centro Internacional de la Papa [9]. Esto permitió la validación de esta metodología en el entorno del laboratorio de cultivos vegetales de la Universidad de Pamplona. Cada una de estas variedades presentó variaciones morfológicas, inherentes a las características intrínsecas de la especie. Estas diferencias se manifestaron en aspectos como el tamaño de la planta, la densidad del follaje, el grosor de los tallos, la coloración y la morfología de las hojas, entre otros rasgos distintivos. La Figura 1.0 ilustra el procedimiento de propagación de las plantas de papa generadas en condiciones *in vitro* y su establecimiento *ex vitro*.

Los resultados obtenidos se alinearon con las expectativas asociadas a esta tecnología, lo que representa un indicio alentador para su implementación en clones de variedades de papa en Norte de Santander. Igualmente, es esencial destacar que los materiales iniciales utilizados deben estar exentos de cualquier forma de contaminación y la implementación de la producción de semilla prebásica a través de la micropropagación requiere rigurosamente cumplir con este requisito. En consecuencia, los programas de mejoramiento de semillas deben contar con sistemas eficaces de purificación y mantenimiento de variedades libres de contaminantes. De lo contrario, resulta inviable obtener semillas de alta calidad, dado que la contaminación persiste a pesar de las ventajas tecnológicas que pueda ofrecer cualquier sistema.

En cuanto a los resultados estadísticos de la validación del protocolo de micropropagación en las variedades de papa amarilla Colombia y perla negra, descrito por Vollmer et al; [9] bajo las condiciones del laboratorio de cultivos vegetales *in vitro* de la Universidad de Pamplona demostraron que no hay diferencias significativas en las variables evaluadas. En la Tabla 1 se presentan el resumen del análisis estadístico de las variables evaluadas en las dos variedades de papa.

Tabla 1. Resumen de los resultados estadísticos en las dos variedades de papa

| Variable | Papa Negra | Papa Amarilla |
|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Contaminación | | |
| Media | 1.972 | 2.066 |
| Desviación estándar | 0.221 | 0.209 |
| Prueba Shapiro Walk | W = 0.980, p-value = 0.934 | W = 0.966, p-value = 0.725 |
| Prueba de Bartlett | K-squared = 0.113, p-value = 0.944 | K-squared = 4.2802, p-value = 0.117 |
| ANOVA | F value 5.045 Pr(F) 0.0658. | F value 0.756 Pr(>F) 0.394 |
| ANOVA entre variedades | F value = 0, Pr(F) = 1. | |
| Fenolización | | |
| Media | 1.0125 | 0.995 |
| Desviación estándar | 0.180 | 0.157 |
| Prueba Shapiro Walk | W = 0.951, p-value = 0.292 | W = 0.952, p-value = 0.300 |
| Prueba de Bartlett | K-squared = 2.200, p-value = 0.332 | K-squared = 0.036, p-value = 0.98 |
| ANOVA | F-value= 3.523 Pr(F) = 0.0479 | F-value= 0.399 Pr(F) = 0.676 |
| ANOVA entre variedades | F value = 0, Pr(F) = 1. | |
| Número de brotes | | |
| Media | 5.25 | 4.958 |
| Desviación estándar | 1.293 | 1.428 |
| Prueba Shapiro Walk | W = 0.918, p-value = 0.0550 | W = 0.936, p-value = 0.136 |
| Prueba de Bartlett | K-squared = 1.179, p-value = 0.554 | K-squared = 0.175, p-value = 0.915 |
| ANOVA | F-value= 12.66, Pr(F) = 0.0001 | F-value= 145.2, Pr(F) = 1.98e-05 |
| ANOVA entre variedades | F value = 0.149, Pr(F) = 0.705 | |

Distribución de los datos en las variables evaluadas en las dos variedades de papa del estudio.

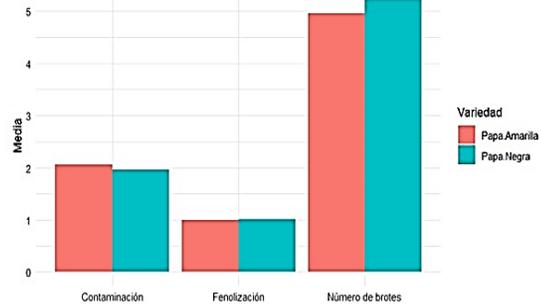


Figura 2. Distribución de los datos Fuente: Autor(es)

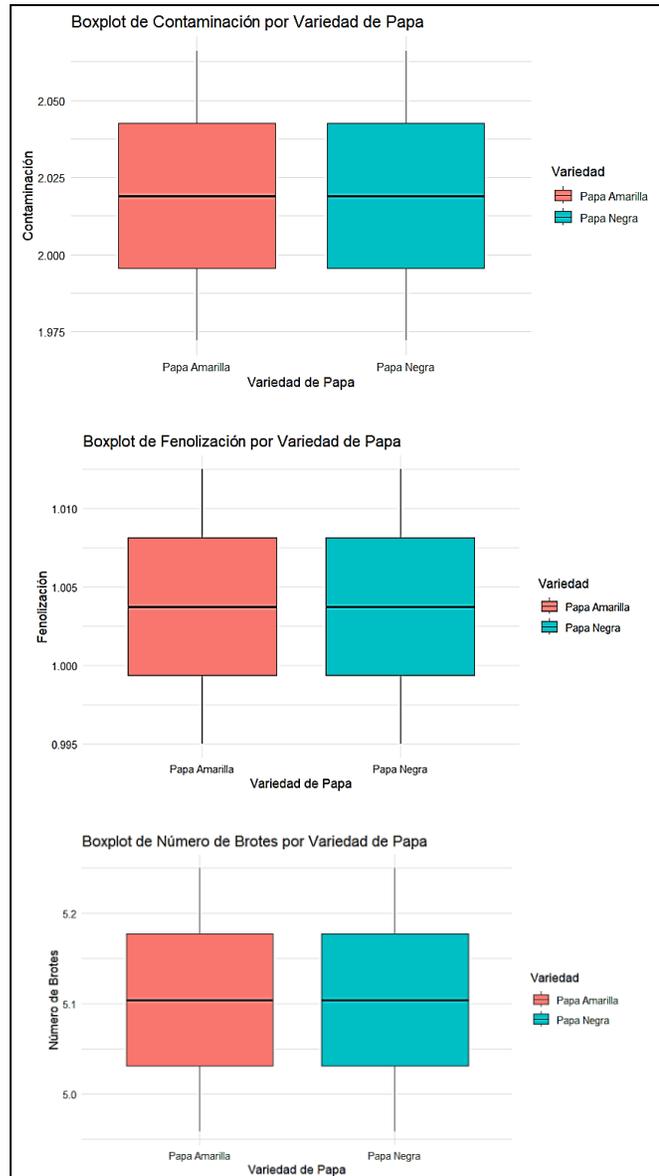


Figura 3. Representación comparativa de los valores atípicos para cada variable (contaminación, fenolización y número de brotes) de las dos variedades (Papa Negra y Papa Amarilla). Fuente: Autor(es)

La representación gráfica (Fig. 2) de las dos variedades de papa analizadas evidencia diferencias en términos de las tres variables consideradas (contaminación, fenolización y número de brotes). En efecto, la Papa Negra muestra una media inferior de contaminación en comparación con la variedad amarilla, sugiriendo la posible existencia de una resistencia fisiológica más robusta en la primera. Además, se destaca que la Papa Negra exhibe una media levemente superior de fenolización en comparación con su contraparte indicando posiblemente respuestas bioquímicas diferenciadas entre las dos variedades ante la exposición al corte o al contacto con los desinfectantes superficiales [13]. Por otro lado, la observación de una media superior en el número de brotes para la Papa Negra indica una mayor capacidad morfológica en comparación con la variedad amarilla.

En relación con los valores atípicos de cada variable, según se representa en la Fig. 3, se aprecia que la línea horizontal, que corresponde a la mediana, indica la ausencia de diferencias significativas. De hecho, se observa una escasa variabilidad en los datos, dado que el rango intercuartílico es comparable en ambas cajas para todas las variables analizadas.

Establecimiento de las dos variedades en condiciones *ex vitro*

La configuración química y física del sustrato empleado fue positiva en el avance de las plántulas sometidas a micropropagación, lo cual se reflejó en la manifestación de una vigorosa morfología y en un óptimo desarrollo del sistema aéreo y radicular. Se documentó una tasa de viabilidad del 86% y 85% para las variedades criolla Colombia y perla negra, respectivamente (Fig. 4). El protocolo implementado demostró su eficacia al facilitar la producción de un número adecuado de plantas madre homogéneas, destinadas a la generación de semilla pre-básica.

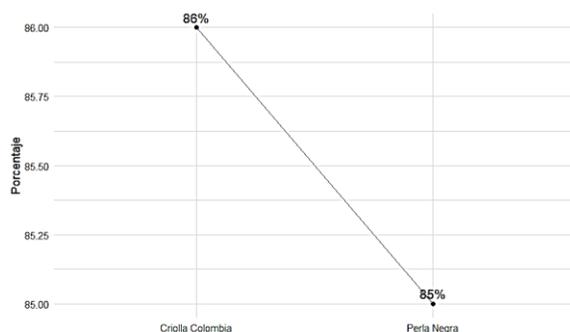


Figura 4. Comparativo del porcentaje de establecimiento *ex vitro* de las dos variedades de papa de este estudio.

Fuente: Autore(es)

4. Conclusiones

La producción prebásica de semilla de papa de alta calidad emerge como un componente crítico en la cadena de producción, destacando su esencialidad en diversos aspectos. En el contexto de la región productora de papa en Norte de Santander, Colombia, se evidencia un notable interés en la exploración de sistemas de generación de semilla que combinen eficacia, eficiencia, facilidad de implementación y mantenimiento. Desde esta perspectiva, el sistema validado en este estudio no solo parece cumplir con dichos requisitos, sino que también presenta la ventaja de una producción rápida. El análisis de las variables en los clones de las variedades de papa amarilla Colombia y perla negra, siguiendo el protocolo de micropropagación propuesto por el Centro Internacional de la Papa ha permitido la validación exitosa de esta metodología en el entorno del laboratorio de cultivos vegetales de la Universidad de Pamplona. Los resultados se alinean con las expectativas de la tecnología de micropropagación, lo que sugiere su potencial promisorio para implementarse en clones de variedades de papa en Norte de Santander. Cabe resaltar la importancia de iniciar con materiales libres de contaminación, subrayando la necesidad de sistemas efectivos y el mantenimiento de variedades libres de virus o agentes infecciosos en programas de mejoramiento de semillas. Desde una perspectiva estadística, el análisis de las variables no reveló diferencias significativas entre las variedades, respaldando la consistencia del protocolo de micropropagación bajo las condiciones del laboratorio de cultivos vegetales *in vitro* de la Universidad de Pamplona. El establecimiento exitoso de las variedades en condiciones *ex vitro*, respaldado por la configuración química y física del sustrato, se traduce en una elevada tasa de viabilidad para las variedades criolla Colombia y perla negra. Este resultado subraya la eficacia del protocolo de micropropagación implementado para la producción de plantas madre homogéneas destinadas a la generación de semilla pre-básica.

Reconocimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad de Pamplona, y a la Corporación de Colombia de Investigaciones (Agrosavia).

Financiación

La presente investigación fue financiada por el Sistema General de Regalías (SGR) y la Universidad de Pamplona. Proyecto: Investigación, vinculación y ampliación de la oferta tecnológica disponible para el mejoramiento productivo del cultivo de papa en los departamentos de Santander y Norte de Santander BPIN- 2018000100186. Convenio Universidad de Pamplona-Agrosavia No 1982-02.

Referencias

- [1] T. Buckseth, A. K. Sharma, K. K. Pandeya, B. P. Singha, and R. Muthuraj, "Methods of pre-basic seed potato production with special reference to aeroponics—A review," *Scientia Horticulturae*, vol. 204, pp. 79–87, 2016.
- [2] M. Shafiq, S. Ahmad, M. T. Abbas, A. Ahsan, M. Asif, and M. S. Haider, "Chapter 42 - Potato," in *Viral Diseases of Field and*

- Horticultural Crops, L. P. Awasthi, Ed. Academic Press, 2024, pp. 353-359. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90899-3.00085-9>. ISBN: 9780323908993.
- [3] L. F. Salazar, "Potato Viruses, and Their Control," International Potato Centre, Lima, Peru, vol. 214, 1996.
- [4] S. Singh, V. Singh, and S. K. Singh Pandey, "Aeroponic for potato seed production," ICAR News A Science Technology. Newsletter, New Delhi, vol. 16, no. 2, pp. 1–2, 2010.
- [5] K. K. Pandey and B. P. Singh, "Effect of Bower system on minituber yield of different varieties in aeroponic system," National seminar on emerging problems of potato. Organized by IPA at CPRI, Shimla, vol. 1, no. 2, p. 193, 2014.
- [6] M. A. Arellano García, E. E. Villavicencio Gutiérrez, and S. J. García Garza, Producción de plántulas y semilla prebásica de variedades comerciales de papa libres de enfermedades. Primera Edición, 2010. ISBN: 978-607-425-301-6.
- [7] P. S. Naik, S. K. Chakrabarti, D. Sarkar, and R. K. Birman, "Potato biotechnology: Indian perspective. potato, global research & development. Proceedings of the Global Conference on Potato," in Potato, Global Research and Development, S. M. P. Khurana, G. S. Shekhawat, B. P. Singh, and S. K. Pandey, Eds., vol. 1, pp. 194–211, 2000.
- [8] K. Pruski, "Micropropagation technology in early phases of commercial seed potato production," Ph.D. dissertation, Wageningen University, Wageningen, Netherlands, 2001.
- [9] R. Vollmer, A. Panta, R. Solis, N. Manrique, and N. L. Anglin, "Propagación *in vitro* de papa y camote CIP – SOP056 V 3.0 - 14 p," Feb. 6, 2020.
- [10] T. Murashige and F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures," Physiogy Plant, vol. 15, no. 3, pp. 473-497, 1962.
- [11] C. Dytham, Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide. Blackwell Science, 2011. 298p.
- [12] A. H. del Rio, C. Obregon, J. B. Bamberg, J. Petrick, R. Bula, and F. de la Calle, "Validación del protocolo de Producción de Semilla de Papa usando Ambientes Controlados (Sistema CETS), en especies cultivadas de papa (*Solanum tuberosum* L.)," Revista Latinoamericana de la Papa, vol. 21, no. 2, pp. 89 – 96, 2017.
- [13] S. Park, "Chapter 7 - Regeneration and morphogenesis," in Plant Tissue Culture (Fourth Edition), S. Park, Ed. Academic Press, 2021, pp. 87-99. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821120-5.00016-X>. ISBN: 9780128211205.