

# **Evaluación de cruces intraespecíficos en papa (*S. tuberosum* L.) para su uso como semilla sexual**

*Juan Castillo Hernández, Ana Estévez Valdés, María E. González, Jorge L. Salomón, Enrique Ortiz, Ursula Ortiz, Eric Díaz, Ramón Tejeda, Odalis Céspedes y Beatriz Araujo*

**Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)**

## **RESUMEN**

Se estudiaron durante dos años, en condiciones de invernadero, seis cruzamientos intraespecíficos de papa entre tres variedades comerciales y cuatro clones provenientes del Centro Internacional de la Papa. Los estudios fueron realizados con el objetivo de evaluar su comportamiento en los cruzamientos y durante la etapa de semilla botánica para su posible uso como progenitores en un programa de semilla sexual de papa. Se evaluó el porcentaje de viabilidad y germinación del polen, el número de flores polinizadas, el número de frutos logrados, el número de semillas totales y por fruto y el largo y diámetro de las bayas. Las semillas híbridas obtenidas fueron sembradas en cajas de madera que contenían una mezcla de materia orgánica y tierra en una proporción de 1:1. Se le evaluó el porcentaje de germinación a los siete y diez días de sembrados. Las plántulas transplantadas a bolsas fueron evaluadas en cuanto al porcentaje de supervivencia, altura, uniformidad y vigor. El cruce Desirée x Kondor presentó, de manera general, el mejor comportamiento para ser utilizado en un programa de semilla sexual; aunque los mayores rendimientos fueron alcanzados por los cruces donde los clones del CIP fueron utilizados como progenitores masculinos.

## **INTRODUCCIÓN**

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta tetraploide altamente heterocigótica originaria de América del Sur. Desde su introducción en Europa en el siglo XVI, ha sido desarrollada y ampliamente estudiada en todo el mundo, siendo considerada como uno de los principales alimentos a nivel mundial, superada solamente por el arroz, el trigo y el maíz (FAO, 1996). Este cultivo ocupa el primer lugar dentro de los vegetales que más se consumen, por su contribución a la dieta humana en: calorías, vitaminas, proteínas y sales minerales; además de contener otras sustancias como los aminoácidos lisina y cisteína, el ácido pantoténico, el zinc y el cobre deficientes en la mayoría de los productos agrícolas (Kolasa, 1993).

La producción y el consumo de papa en climas tropicales y subtropicales son con frecuencia severamente limitados por el elevado costo o falta de disponibilidad de tubérculos semilla de alta calidad. Sin embargo la demanda por el producto en los países en desarrollo, continúa incrementándose. La semilla sexual de papa se vislumbra como una alternativa apropiada para producir este cultivo en climas tropicales. Una de las principales ventajas de la semilla sexual, como alternativa de propagación del cultivo de la papa es la flexibilidad que ofrece a través de distintas formas de uso a diferentes condiciones agroecológicas.

El principal objetivo en un programa de mejoramiento de semilla sexual es obtener progenies uniformes para caracteres agronómicos y reproductivos con resistencia a importantes enfermedades. Uno de los aspectos fundamentales a tener en cuenta para seleccionar familias híbridas para su uso como semilla sexual es la uniformidad de sus progenies; así como que posean una buena vigorosidad y adecuado rendimiento.

Teniendo en cuenta lo antes planteado este trabajo estuvo encaminado a seleccionar cruces con buenas características para su uso como semilla sexual de papa

## MATERIALES Y MÉTODOS

En las campañas 1997-98 y 1998-99 se realizaron en condiciones de invernadero, seis cruzamientos intraespecíficos entre tres variedades comerciales y tres clones provenientes del Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú (Tabla 1). Estos se realizaron según el método de decapitación (Peloquin y Hougas, 1959 citados por Estévez *et al.* 1994). Las inflorescencias fueron colectadas en la mañana y llevadas al invernadero. Después de un periodo de recuperación de aproximadamente dos horas, se eliminaron las flores abiertas y los botones inmaduros y se realizó la emasculación. Inmediatamente después se realizó la polinización siguiendo el plan de cruzamientos trazados.

**Tabla 1. Combinaciones híbridas realizadas**

<i>No.</i>	<i>Combinaciones híbridas</i>
1	Atlantic x Kondor
2	Desirée x CIP 23
3	Desirée x CIP 115
4	Desirée x Kondor
5	Desirée x CIP 110
6	CIP 114 x Desirée

Las bayas se cosecharon entre los 25 y 30 días posteriores a la polinización. Estas permanecieron almacenadas a temperatura ambiente hasta su completa maduración para realizarle la extracción de las semillas, las cuales fueron lavadas y secadas y se conservaron a una temperatura de  $\pm 20$  °C por un periodo de alrededor de nueve meses.

En esta etapa se evaluó el porcentaje de viabilidad (Singh, 1993) y germinación del polen (Stanley y Linskens, 1974 citados por González *et al.* 1992), el número de flores polinizadas (NFIP), el número de frutos logrados (NFrL), el número de semillas totales (NST) y por fruto (NS/Fr) y el largo y diámetro de las bayas (LB, DB). También se determinó el porcentaje de fructificación de cada cruce mediante la fórmula:

$$\% \text{ de fructificación} = \text{NFrL} \backslash \text{NFIP} * 100$$

Las semillas híbridas obtenidas fueron sembradas en los años 1998 y 1999 en cajas de madera que contenían una mezcla de materia orgánica y tierra en una proporción de 1:1. Se le evaluó el porcentaje de germinación a los siete y diez días de sembrados.

A los 25 días, las plántulas fueron transplantadas a bolsas de nylon de polietileno negro que contenían una mezcla de materia orgánica y tierra en proporción 2:1. Las bolsas fueron colocadas en una canaleta e identificadas por cruce. El riego se realizó por aniego para disminuir el ataque de enfermedades y mantener la humedad constante. A los 25 días se le aplicó a cada bolsa 1 gr. de la fórmula completa 9-13-18. Durante esta etapa se evaluó:

- El porcentaje de supervivencia. Del total de plántulas transplantadas cuantas sobrevivieron.
- Altura (cm). Se evaluó a los 50 días de realizado el transplante.
- Uniformidad. Se evaluó de acuerdo a la escala de cinco grados utilizada por Santos (1992), donde 1= muy mala y 5= muy buena.
- Vigor. Se evaluó según escala de nueve grados utilizada por Torres *et al* (1992), donde: 0= muy bajo y 9= muy bueno

La cosecha de las plantas se realizó a los 80 días en los dos años, seleccionándose un tubérculo por cada planta para formar las familias híbridas. De cada uno de los cruces se tomaron al azar 30 plantas a las cuales se les evaluaron el número de tubérculos por planta, peso de los tubérculos por planta (gr) y la masa promedio de los tubérculos (gr).

#### *Análisis estadísticos*

Con la media de los dos años se realizaron análisis de correlaciones simples entre el porcentaje de fructificación, el número de frutos logrados, número de semillas por fruto, diámetro y largo de la baya y la viabilidad y germinación del polen de los progenitores. Con los valores del porcentaje de germinación de la semilla y el porcentaje de supervivencia, transformados a arcosen raíz del por ciento, se realizaron análisis de comparación de proporciones, los cuales fueron comparados mediante la prueba F. Los datos de las progenies híbridas seleccionadas por cruce fueron analizados mediante un análisis de varianza bifactorial de efecto aleatorio bajo un diseño completamente aleatorizado, donde los factores fueron cruces y años.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al analizar los resultados de la viabilidad y germinación “in vitro” del polen (Tabla 2) se observó que los clones procedentes del Centro Internacional de la Papa presentaron los porcentajes mas altos para estos caracteres, con excepción del clon CIP 114 que fue bajo. Para la viabilidad, el clon CIP 115 presentó el valor mas alto con 86.25 % sin diferir significativamente del clon CIP 23 (84.5 %) y difiriendo significativamente del resto. Almeida (1998) y Dula (1998) encontraron siempre mayor viabilidad para un grupo de clones provenientes del Centro Internacional de la Papa con relación a las variedades cultivadas, aunque según González *et al.* (1992), el mayor porcentaje de viabilidad del polen está presente en las especies silvestres.

En cuanto a la germinación “in vitro” del polen vemos que los porcentajes fueron menores, comparados con la técnica de tinción morfológica. El clon CIP 110 presentó el valor mas alto con 78.25 % difiriendo significativamente del resto. Los clones CIP 115, CIP 23 y la variedad Kondor presentaron porcentajes superiores al 60 %, sin embargo el primero no difirió del segundo, pero sí lo hizo de la variedad Kondor. Según Bamberg y Hanneman (1991), este método es el mas recomendado en el cultivo de la papa, además de ser un método mas directo y aportar resultados mas confiables (Porta y Rosselli, 1991). Todo lo anterior fue confirmado González (1998), quien demostró además que la germinación del polen está altamente influida por la temperatura.

**Tabla 2. Porcentaje de viabilidad y germinación “in vitro” del polen de los clones y variedades seleccionadas como progenitores**

Genotipos	% de viabilidad		% de germinación	
	Medias transf.	Medias sin transf.	Medias transf.	Medias sin transf.
Desirée	44.71 d	49.5	40.53 d	42.25
Atlantic	21.3 f	13.25	14.11 f	6.00
Kondor	56.34 c	69.25	52.98 c	63.75
CIP 110	68.38 a	86.25	62.21 a	78.25
CIP 115	60.71 b	76.00	56.49 b	69.50
CIP 23	66.83 a	84.5	55.10 bc	67.25
CIP 114	24.49 f	17.25	20.66 e	12.50
X ± ES	48.96 ± 1.07 ***		43.15 ± 0.73 ***	

( ) Valor original

\*\*\* significativo para P< 0.001

Medias con letras comunes no difieren significativamente.

En la tabla 3 se presentan los resultados de los cruzamientos entre los progenitores seleccionados. Se polinizaron un total de 583 flores y se lograron un total de 471 frutos para un elevado porcentaje de fructificación del 80.8 %. Este porcentaje fue alto para todos los cruces, superando el 70 % en todos los casos. El valor mas alto lo alcanzó el cruce Desirée x CIP 115 con 94.4 % y el más bajo el cruce Atlantic x Kondor con 73.21; sin embargo cuando analizamos el número de semillas total por cruce y el número de semillas por fruto vemos que aunque el cruce CIP 114 x Desirée presentó alto porcentaje de fructificación, tuvo un bajo número de semillas por fruto, que fue de 31.14 muy por debajo de la media general (74.9). El cruce Desirée x Kondor presentó el mayor número de semillas por fruto con 119.76.

Se puede apreciar que en las combinaciones donde se utilizó la variedad Desirée como progenitor femenino, se alcanzaron los mayores porcentajes de fructificación y mayor número de semillas por fruto. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Torres *et al.* (1992) y Estévez *et al.* (1996) donde las mejores combinaciones fueron aquellas donde esta variedad se utilizó como

progenitor femenino. Santos (1992) también encontró altos porcentajes de fructificación cuando utilizó varios progenitores tetraploides, dentro de los que se encontraba la variedad Atlantic. Debemos señalar que el resultado de las polinizaciones depende de la influencia de varios factores que pueden influir determinantemente en el número de semillas obtenidas (Almekinders, 1996) y en la calidad de las mismas (Pallás *et al.* 1996).

**Tabla 3. Resultados de las combinaciones híbridas realizadas durante dos campañas**

Cruces	NFIP	NFrL	% F	NS/C	NS/Fr	Diámetro de la baya	Largo de la baya
Atlant. x Kondor	168	123	73.21	7494	64.58	2.04	1.58
Desirée x CIP 23	88	70	79.54	6980	99.71	2.45	1.84
Desirée x CIP 115	125	118	94.4	12900	94.4	2.6	1.89
Desirée x Kondor	48	43	89.58	5150	119.76	2.74	1.92
Desirée x CIP 110	63	47	74.6	2700	57.44	2.06	1.66
CIP 114 x Desirée	91	70	76.92	2180	31.14	1.94	1.5
Total	583	471	80.8	36404	74.29	2.3	1.73

NS/C número de semillas por cruce

NFIP- número de flores polinizadas

NS/Fr número de semillas por fruto

NFrL- número de frutos logrados

% F- % fructificación

En la tabla 4 se presentan las correlaciones lineales entre el número de frutos logrados, número de semillas por frutos, diámetro y largo de la baya y la viabilidad y germinación del polen, los que influyen en el número de semillas totales obtenidas. Se encontraron correlaciones positivas y altamente significativas entre la germinación del polen y los demás caracteres excepto para el largo de la baya. Estos resultados corroboran los obtenidos por González *et al.* (1995), las que plantearon que la germinación del polen “in vitro” brinda un estimado confiable de la fertilidad masculina, al obtener correlaciones significativas con el número de frutos y el número de semillas por fruto.

La viabilidad del polen también mostró correlaciones positivas, pero no tan significativas como la germinación, lo cual es lógico, ya que esta técnica sobrestima la viabilidad, al existir granos coloreados que no germinan (González, 1998).

Existieron correlaciones positivas y altamente significativa entre el número de semillas por frutos y el diámetro y largo de las bayas. Sin embargo en este sentido, Van Marrewijk (1998) planteó

que se pueden producir bayas muy grandes pero con pocas semillas y viceversa; todo ello producto de incompatibilidad entre los progenitores empleados, debido a los alelos S (Hosaka y Hanneman, 1998).

**Tabla 4. Correlaciones lineales entre el número de frutos logrados, número de semillas/fruto, diámetro de la baya, largo de la baya y la viabilidad y germinación del polen**

Variables	NFrL	NS/Fr	DB	LB	VP	GP
NFrL	1.000					
NS/Fr	0.015	1.000				
DB	- 0.103	0.943 **	1.000			
LB	0.265	0.868 **	0.788 *	1.000		
VP	0.716 *	0.828 *	0.815 *	0.468	1.000	
GP	0.871 **	0.888 **	0.839 **	0.564	0.943 ***	1.000

\* significativo para  $P < 0.05$

\*\* significativo para  $P < 0.01$

\*\*\* significativo para  $P < 0.001$

### **Evaluación de la germinación de la semilla y el desarrollo de las plántulas**

En la tabla 5 se presentan los resultados del comportamiento de las familias híbridas en el invernadero para la germinación de las semillas (7 y 10 días), la supervivencia, el vigor y la uniformidad. En cuanto a la germinación hubo diferencias significativas a los 7 y a los 10 días entre los cruces. A los 7 días el porcentaje más alto lo presentó el cruce Desirée x Kondor con un 65.27 % sin diferir significativamente de los cruces Desirée x CIP 23 y Desirée x CIP 115 los que a su vez no difirieron del cruce Desirée x CIP 110 y sí del resto.

La mayoría de los cruces sobrepasaron el 50 % de germinación en esta fecha, con excepción de Atlantic x Kondor y CIP 114 x Desirée. A los 10 días se mantuvo el mismo comportamiento que a los 7, sólo que los valores se incrementaron hasta superar el 70 % en los cruces Desirée x Kondor y Desirée x CIP 23, los cuales no difirieron significativamente del cruce Desirée x CIP 115 y sí del resto.

Palláis *et al* (1991) planteó que la semilla sexual de papa emerge pobremente bajo condiciones de altas temperaturas ( $> 25$  °C), aunque depende además de factores como el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Palláis (1996) obtuvo a su vez bajos porcentajes de germinación ( $< 50$  %) en semillas híbridas conservadas durante tres meses, que se fue incrementando con el tiempo de almacenamiento. Los resultados alcanzados en la germinación pudieron estar influenciados por la profundidad de siembra y por el tiempo de evaluación utilizado, ya que aunque en la literatura se reportan evaluaciones a partir de los 4 días (Palláis, 1996), se observó,

en las condiciones en que se realizó este experimento, que los porcentajes de germinación se incrementaron paulatinamente, incluso mucho después de los 10 días.

Los porcentajes de supervivencia fueron altos para los cruces Desirée x CIP 23, Desirée x CIP 115 y Desirée x Kondor con valores superiores al 85 %, los cuales difirieron significativamente del resto. El valor más bajo lo presentó el cruce CIP 114 x Desirée con un 50.49 %. Torres *et al.* (1992) encontraron porcentajes de supervivencia por debajo del 80 % al analizar semillas de polinización libre de Desirée y semillas de cruces directos y recíprocos utilizando esta misma variedad. Por otra parte Pandey y Gupta (1996) encontraron una alta correlación entre el porcentaje de germinación, el porcentaje de supervivencia y el vigor al estudiar 105 cruces usando 15 progenitores.

En la tabla también se pueden apreciar los valores del vigor y la uniformidad, según las escalas utilizadas. Los valores mas altos fueron alcanzados en aquellos cruces donde se utilizó a los clones del CIP como progenitores masculinos. Estévez *et al.* (1996) planteó que estos clones presentan un follaje muy vigoroso, lo cual nos da la medida de la alta capacidad de transmisión de este carácter a su descendencia.

La uniformidad de las plántulas se comportó de buena a muy buena en los cuatro primeros cruces, mientras que para el cruce Desirée x CIP 110 fue de regular a buena. El cruce CIP 114 x Desirée presentó el valor mas bajo de la escala correspondiente a una uniformidad de mala a regular. Santos (1992), encontró valores de la escala inferiores a 4 en cruces entre variedades comerciales y clones establecidos y donde al usar la variedad Desirée como progenitor femenino se alcanzó los valores máximos de la escala; esto concuerda con los resultados obtenidos, ya que en la mayoría de los cruces donde se usa esta variedad en este sentido, se alcanzan los mayores valores de uniformidad del follaje.

El vigor de la planta y la uniformidad tanto del follaje como de los tubérculos son dos aspectos muy importantes a tener en cuenta cuando se establece un programa para semilla sexual de papa (Pandey y Gupta, 1996).

En la tabla 6 se presentan los resultados del análisis de varianza para el rendimiento, el número de tubérculos, la masa promedio y la altura en la etapa de invernadero, donde no se encontró interacción cruces por año. Se observaron diferencias altamente significativas entre los años para todos los caracteres evaluados, lo cual es lógico, ya que la papa está muy influenciada por las condiciones ambientales (Bradshaw y MacKay, 1994). Sahagún (1992) citado por Estévez *et al.* (1999) señaló que la expresión de muchos caracteres cuantitativos es fuertemente influenciada por la interacción entre genotipos y ambiente.

De manera general se puede concluir que se evidenció un mayor porcentaje de viabilidad y germinación del polen en los progenitores provenientes del CIP. Se encontraron porcentajes de fructificación superiores al 70 %, destacándose los cruces donde la variedad Desirée se usó como progenitor femenino, los que a su vez alcanzaron el mayor número de semillas por fruto. Se encontraron correlaciones positivas y altamente significativas entre la germinación del polen y los demás caracteres excepto para el largo de la baya. Se alcanzaron en todos los cruces porcentajes de germinación de la semilla y de supervivencia superiores al 50 %, destacándose las

combinaciones Desirée x Kondor, Desirée x CIP 23 y Desirée x CIP 115 con los mayores valores. Se presentó un buen comportamiento para vigor y uniformidad. El cruce Desirée x Kondor fue el menos variable y el mas uniforme para los caracteres evaluados.

**Tabla 5. Comportamiento del porcentaje de germinación y supervivencia, el vigor y la uniformidad de las plántulas**

Cruces	Germinación (%)		% de Supervivencia	Vigor*	Uniformidad*
	7 días	10 días			
Atlantic x Kondor	0.46 (45.8) c	0.6 (59.8) b	0.68 (68.2) c	6.5	4.0
Desirée x CIP 23	0.64 (64.3) ab	0.71 (70.87) a	0.89 (88.9) a	8.6	4.8
Desirée x CIP115	0.58 (58.2) ab	0.69 (66.8) a	0.86 (86.30) a	8.7	4.5
Desirée x Kondor	0.65 (65.2) a	0.74 (73.6) a	0.87 (86.87) a	7.4	4.4
Desirée x CIP110	0.56 (56.3) b	0.57 (56.7) bc	0.76 (75.6) b	8.2	3.7
CIP 114x Desirée	0.36 (36.1) d	0.51 (50.5) c	0.51 (50.5) d	2.5	2.9
ES	0.03 ***	0.03 ***	0.02 ***	6.9	4.1

\*\*\* significativo para  $P < 0.001$

( ) Valor original

Proporciones con letras comunes no difieren significativamente.

\* 0= muy bajo y 9= muy bueno

\*\* 1= muy mala y 5= muy buena

**Tabla 6. Análisis de varianza para los caracteres cuantitativos en la etapa de plántula durante dos años**

Fuente de Variación	Cuadrados Medios				
	GL	Rendimiento (g/p)	No. de tubérculos	Masa promedio (g)	Altura (cm)
Tratamientos	11	4667.15 ***	5.57 ***	126.08 ***	580.5 *
Cruces (C)	5	2187.75	3.23	54.14	740.04
Años (A)	1	39832.19 ***	36.44 ***	1022.16 ***	1888.26 ***
C x A	5	113.55	1.74	18.80	159.41
Error	168	190	3	22.71	252.05
Total	179				

\* significativo para  $P < 0.05$

\*\*\* significativo para  $P < 0.001$

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida, S. M. (1998). Evaluación y selección de clones cubanos de papa (*Solanum tuberosum* L.) obtenidos de familias híbridas procedentes del CIP. Tutor: Dra Ana Estévez Valdés. Tesis de Diploma. UNAH, La Habana. 58 pp.
2. Almekinders, C. J. M.; A. S. Chilver y H. M. Renia (1996). Current status of the TPS technology in the world. **Potato research**, 39: 289-203.
3. Bamberg, J.B y Hanneman, R.E. (1991). An effective method for culturing pollen tubes of potato. **Am. Pot. Journal**. 68 (6): 373-379.
4. Bradshaw, J.E.; GR. MacKay. Breeding strategies for clonally propagated potatoes. **En: Potato Genetic**. Wallingford, CAB International. p. 467-498, 1994.
5. Dula, M. Evaluación y selección de un grupo de clones cubanos de papa (*Solanum tuberosum* L.). Trabajo de Diploma. UNAH, La Habana. 1998.
6. Estévez, A.; M. E. González; J. Castillo y E. Ortiz. (1999). Estudio de Genotipos de papa procedentes del germoplasma foráneo. **En: Compendio de exposiciones del III Taller Nacional de Producción de papas en los Trópicos**. pp. 57-58.
7. Estévez, A.; M. E. González y M. Cordero (1994). Primeras variedades cubanas de papa. **Cultivos tropicales**, 15(2): 74-79.
8. Estévez, A.; M. E. González; M. Nimonoba y J. Castillo (1996). Obtención y evaluación de progenies de semilla sexual de papa. Parte I. **Cultivos Tropicales**, 17(1): 60-64.
9. FAO (1996). Draft report on the State the World's. **Plant Genetic Resources**, Roma, 35 p.
10. González M. E. (1998). Mejoramiento por hibridación de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Cuba. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA. La Habana, Cuba.
11. González M. E.; A. Estévez y D. García (1995). Métodos para determinar la fertilidad del polen y sus resultados con los resultados de las polinizaciones. **Cultivos Tropicales**. 16(2): 84-88.
12. González, M. E., Estévez, A., Rodríguez, T. y Alvarez, M. (1992). Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. **Cultivos Tropicales**. 16 (2): 70-73.
13. Hosaka, H. y R. E. Hanneman (1998). Genetics of self-compatibility in a self-incompatible wild diploid potato species *Solanum chacoense*. 1. Detection of an S locus inhibitor (Sli) gene. **Euphytica**. 99: 191-197.
14. Kolasa, M. K. (1993). The Potato and Human Nutrition. **Amer. Pot. Jour.** 70: 375-384.
15. Pallais, N, N. Espinola, R. Falcón and R. García. (1991) Improving seedling vigor in sexual seeds of potato under high temperature. **Hort. Science**, 26:296-299.
16. Pallais, N, Santos-Rojas y Rosario Falcón (1996). Storage temperature affects sexual potato seed dormancy. **Hort. Science**. 31(1): 99-101.
17. Pandey, S. K. and P. K. Gupta (1996). Studies on character association for selection on TPS populations. **Jour. Indian Pot. Assoc.** 23 (1, 2): 15-19.
18. Porta, N, Roselli, G. (1991). Relationship between pollen germination in vitro and fluorochromatic reaction in cherry clone F(121) (*Phumus avium* L.) and some of its mutants. **Jour. of Hort. Science**. 66(2): 171-175.

19. Santos, J. (1992). Avances en la producción de semilla sexual híbrida de papa (SSP) en Chile. **En:** Semilla sexual de papa en Latinoamérica. CIP, Lima, Perú. p. 47-58.
20. Singh, R.L (1993). Plant Cytogenetic. Boca Ratón, CRC, 391 pp.
21. Torres, F.; C. Gonzáles y H. Torrez (1992). Semilla sexual en la producción de papa en Nicaragua. **En:** Semilla sexual de papa en Latinoamérica. CIP, Lima, Perú. p. 59-70.
22. Van Marrewijk, G. A. (1998). Flowering biology and hybrids varieties. Hybrids varieties. **En:** International Course on Applied Plant Breeding. IAC, Wageningen. The Netherland, 80 p.