

OBTENCIÓN DE PLANTAS SANAS DE PAPA, *Solanum tuberosum* L. VARIEDAD SALENTUNA, A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS DE TERMOTERAPIA Y CULTIVO DE MERISTEMAS *in vitro*

Adriana Marulanda Aguirre¹; Gerardo Martínez López²

RESUMEN

*Se obtuvieron plantas Super Elite de papa (*Solanum tuberosum* L.), de la variedad regional Salentuna, catalogada como papa fina, implementando las técnicas de termoterapia, cultivo *in vitro* de meristemas y multiplicación acelerada.*

Se limpió esta variedad del complejo de enfermedades que la afectaban, para entregarle a los productores un material sano que los motive a regresar al campo con una alternativa de producción de mayor calidad y rentabilidad.

La falta de semilla sana es una necesidad sentida por los agricultores del departamento de Caldas, pues hace más de treinta años que no se renueva el material vegetal y no existen programas de producción de semilla certificada de esta variedad en el país.

*Palabras claves: *Solanum tuberosum*, Salentuna, semilla sana, terapia de calor, *in vitro*, multiplicación rápida.*

ABSTRACT

OBTAINMENT OF HEALTHY POTATO PLANTS, *Solanum tuberosum* L. SALENTUNA VARIETY, THROUGH THE THERMOTHERAPY'S TECHNIQUES AND

¹ Estudiante. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa Agronomía. Manizales, Colombia. e-mail: amam2001@mixmail.com

² Profesor. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. e-mail: GerardoMartinezL@netscape.net

MERISTEMS CULTIVATION *in vitro*

Potatoes (Solanum tuberosum L.) Super Elite plants were obtained, from the Salentuna regional variety, which is catalogued as a fine potato, implementing thermotherapy's techniques, in vitro propagation of meristems and accelerated multiplication.

This variety was cleaned from the complex of diseases that affected it, in order to give the producers a healthy material that encourage them to return to the countryside with a new production alternative that will give them better quality and higher yield.

The lack of healthy seed is a very high priority for the region's potato growers, since for more than 30 years the vegetable material has not been renewed and there are not programs to promote the production of certified seeds of this specific variety around the country.

Key words: *Solanum tuberosum*, Salentuna, healthy seed, heat therapy, In vitro, rapid multiplication.

INTRODUCCIÓN

La papa, el cuarto cultivo más importante a escala mundial, es utilizada por el 95% de la humanidad en su dieta alimenticia, mientras en Colombia ocupa el primer lugar, con mayor consumo en las zonas frías (Guerrero y Martínez, 1980). Su cultivo en el país se realiza por encima de los 2.500 m.s.n.m., en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Nariño, Tolima, los Santanderes y el Valle del Cauca (Luján, 1982).

En el departamento de Caldas, a pesar de que los agricultores disponen de extensas zonas apropiadas para su siembra y tienen tradición como cultivadores de dicha especie, el área sembrada se ha venido reduciendo por la

pérdida de rentabilidad de las variedades de papa utilizadas en la zona, incluyendo la Salentuna, debido a la utilización continuada de semilla producida en la misma finca, sin ninguna garantía sanitaria, y sólo en muy pocos casos, con buen criterio de selección de las mejores plantas, por parte de los agricultores más tecnificados, además de la ausencia de programas orientados a la producción de semilla sana de las variedades regionales, lo que ha permitido la acumulación de un complejo de enfermedades causadas por bacterias, hongos, nematodos y virus. (Martínez *et al.*, 1998).

La obtención de semilla de papa Salentuna libre de enfermedades, es una necesidad sentida ya que no existe en el departamento, ni en el país programas

de producción de semilla certificada de ésta variedad, muy apreciada por los agricultores en el Departamento de Caldas. Las variedades producidas en los programas de producción de semilla que se adelantan en otras regiones del país no son aceptadas por las exigencias del mercado local y por su falta de adaptabilidad a las zonas de páramo. Una de las formas de detener el proceso degenerativo que ha venido sufriendo esta variedad en los últimos 30 años, es proceder a seleccionarla, tratarla para eliminarle los problemas sanitarios que ha acumulado y multiplicarla para ofrecerle a los agricultores, un material de propagación que les permita tener la oportunidad de mejorar sus

rendimientos, sin necesidad de incurrir en mayores costos de fertilización y control de enfermedades, haciendo del cultivo una empresa rentable (Martínez *et al.*, 1998).

La variedad Salentuna corresponde al Clon 309 de la Colección Central Colombiana (CCC 309) (Variedad antigua de Salento), Quindío), caracterizada por tener tallos gruesos ramificados, folíolos primarios medianos verde claro, flores abundantes, morado intenso y fructificación abundante. Los tubérculos son de tamaño mediano, forma redonda, ligeramente aplanada, ojos superficiales, piel púrpura y crema con pulpa color crema (Figura 1).



Figura 1. Tubérculo de papa de la var. Salentuna, con sus ojos característicos de color crema alrededor de los mismos, las coloraciones oscuras corresponden a la presencia de esclerocios de *Rhizoctonia solani*. (Foto G. Martínez L.)

Se adapta desde los 2809 a 3300 n.s.n.m.: Su periodo vegetativo es de siete a ocho meses. Su rendimiento comercial es de 20 toneladas por hectárea, la materia seca es el 23,5% (peso específico 1,096), el porcentaje de azúcares reductores es de 0,1%, el periodo de reposo tres meses a 15° C y 90 % H.R. Su calidad culinaria, excelente para consumo fresco, siendo susceptible a la Gota (Phytophthora infestans. Mont. de Bary), (Federación Colombiana de Productores de Papa, 1999).

En esta investigación se utilizaron las técnicas de terapia de calor y cultivo de meristemas in vitro, para obtener plantas de la variedad Salentina, libres de las enfermedades transmitidas en la semilla y reconocidas como de mayor incidencia económica en la región, para que sirvan de base al desarrollo posterior de esquemas de producción acelerada de semilla de papa por esquejes, como los sugeridos por Cervantes de Kacán *et al.* (1981), Meléndez y Quevedo (1980) y Lago (1991), creando así las condiciones que permitan tener material sano a disposición de los agricultores.

Lo anterior permitirá que los cultivadores de la región puedan adelantar procesos productivos con esta variedad, generando nuevamente empleo y mejores oportunidades de vida en la zona de cultivo de papa en el Departamento de Caldas, eliminando la necesidad de traer papa de otras zonas productoras, evitando así el riesgo de introducir nuevas plagas y enfermedades a la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó entre Diciembre de 1997 y Octubre de 1999. Los tubérculos utilizados en esta investigación fueron colectados en las zonas paperas del Departamento de Caldas. Se utilizaron tubérculos de papa de variedad Salentina, colectados en las salidas de campo a las zonas productoras de papa en el Páramo de Letras y en el municipio de Marulanda, y en particular en la hacienda la Esperanza, a 3240 m de altitud, latitud 5° 1'N y 75° 21'W, temperatura media 8°C y humedad relativa promedio de 95%, teniendo en cuenta que cumplieran con las características fenotípicas de la variedad.

A los tubérculos colectados se les hicieron pruebas fitopatológicas para determinar cuáles microorganismos patógenos de la papa se encontraban presentes en ellos.

Teniendo en cuenta que los tubérculos de la variedad Salentina para iniciar la brotación después de su cosecha, requieren un periodo de 3 meses de reposo a 15°C y 90% de H.R., los tubérculos se fueron llevados a un lugar oscuro que conservara las anteriores condiciones y a los 15 días después del momento de la cosecha, de acuerdo al tratamiento evaluado previamente por Betancourt³, se sumergieron durante 5 minutos en una solución preparada con

³ Entrevista con Mónica Betancourt. Estudiante Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad de Caldas - Manzales, 15 de Enero de 1998.

5 ppm de ácido giberélico (PROGIBB) para inducir la brotación temprana de los tubérculos, se dejaron secar al aire y nuevamente se llevaron a las condiciones ideales de oscuridad, temperatura y H.R. hasta observar la brotación.

Con los tubérculos brotados se realizaron siembras en materos plásticos, con suelo esterilizado que fueron llevados al invernadero donde se observó el proceso de germinación, durante 15 días, controlando visualmente los contenidos de humedad del suelo.

Cuando los brotes tuvieron 5 cm de altura, las plantas fueron llevadas durante 3 semanas, a un cuarto previamente preparado para el tratamiento de terapia de calor, con paredes aisladas con icopor en donde se sometieron a una temperatura y luminosidad constantes de 37°C y 1000 lux respectivamente durante 12 horas y más del 95% H.R. (Cervantes de Kecán *et al.*, 1991; Vargas⁴).

La terapia de calor es una técnica que contribuye a la eliminación de virus de las plantas cuando se utiliza asociado con el cultivo de tejidos *in vitro* (Price, 1933; Kassanis, 1950; Cervantes de Kecán *et al.*, 1981; Costa, 1975 y Walkey y Cooper, 1975).

Posteriormente cada semana, durante 1 mes, se realizó la toma de brote terminales y/o axilares, para utilizarlos en el proceso de aislamiento y cultivo de meristemas, debido a que los puntos de crecimiento de brotes y raíces de plantas infectadas con algún virus estuviesen libres de él o lo llevarsen en concentraciones muy bajas (Kassanis, 1965; Martínez, 1979).

La capacitación para la obtención de meristemas y micropropagación *in vitro*, se realizó inicialmente en yuca y posteriormente se adaptó a papa en los laboratorios de Biotecnología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Utilizando los procedimientos desarrollados por Roca (1980) y Cervantes de Kecán *et al.* (1981), se procedió en la cámara de flujo laminar, con la ayuda de microbisturíes y un microscopio de luz, al aislamiento de los meristemas, eliminando las hojas que cubren la yema, para obtener un meristema acompañado de un primordio foliar, de aproximadamente 0,2 mm de largo.

Con base en las recomendaciones del asistente de investigación R. Escobar (CIAT) y utilizando los procedimientos desarrollados por Espinoza *et al.* (1992), se utilizaron tres medios para desarrollo de meristemas y propagación del material vegetal de papa. Tabla 1.

⁴ Entrevista con Elsa V. Vargas. Estudiante Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Manizales. 15 de Enero de 1998.

Tabla 1. Ingredientes agregados al medio básico Murashige-Skoog (MS) para la preparación de medios para meristemas y propagación de papa.

Medio	Medios MS	Unidad	Ingredientes
A (meristemas)	0,1	mg/lt	Ac. Giberélico
	0,04	mg/lt	Kinetina
	2,5	%	Sacarosa
	0,6	%	Agar
B (meristemas)	0,1	Mg/lt	Ac. Giberélico
	20,0	mg/lt	Putrescina HCL
	2,5	%	Sacarosa
	0,6	%	Agar
I (Propagación)	0,4	mg/lt	Ac. Giberélico
	0,01	mg/lt	Ac. Naftalenacetico
	0,5	mg/lt	Bencilamino purina
	2,0	mg/lt	Pantotenato de Ca.
	2,0	%	Sacarosa

Utilizando los protocolos de manejo del medio A, para estimular el desarrollo de meristemas, se colocaron 15 ml en tubos de ensayo en condiciones asépticas, inicialmente con dos días de oscuridad total para promover su diferenciación y posteriormente se transfirieron a un área con fotoperiodo de 12 horas de luz, a temperatura constante de 25°C y una intensidad de 1000 lux, para promover su diferenciación.

Alrededor de tres semanas después, cuando los meristemas obtenidos alcanzaron un tamaño de 1-2 mm, fueron transferidos al medio B, en frascos de vidrio de 60 x 60 mm, con tapa, en los cuales se colocaron en condiciones asépticas 25 ml del medio y en las mismas condiciones de oscuridad y posterior luz que en el proceso

anterior.

Alrededor de seis semanas después, cuando los meristemas estaban comenzando la diferenciación de tejidos, se transfirieron al medio I para estimular la propagación del material vegetal con los mismos materiales y procedimientos de los medios A y B, mencionados anteriormente.

La implementación de esta tecnología se llevó a cabo en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad de Caldas, en Manizales.

A las nueve semanas de observaciones, se encontró un lento desarrollo de las plántulas y un color rojo en las puntas de las hojas (antocianinas) (Figura 2), para solucionar el lento crecimiento y color

rojo de las puntas de las hojas, y siguiendo las recomendaciones del Dr. Manzur (Director del Laboratorio de

Tejidos, Universidad de Caldas) se utilizó un medio P, para crecimiento de las plántulas diferenciadas. Tabla 2.

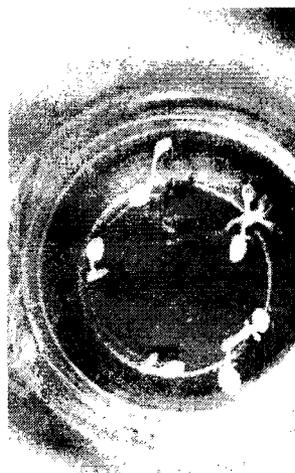


Figura 2. Plántulas de papa var. Salentuna in vitro presentando decoloración. (Foto A. Marulanda A.).

Tabla 2. Ingredientes agregados al medio básico MS para la preparación de medio para plantas diferenciadas de papa.

Medio	Medios MS	Unidad	Reactivos
P (Plantas diferenciadas)	30	gr/lt	Sacarosa
	2	mg/lt	Glicina
	100	mg/lt	M-Inositol
	0,5	mg/lt	Ac. Nicotínico
	0,5	mg/lt	Piridoxina
	0,5	mg/lt	Tiamina
	2	mg/lt	AIA

Para realizar el trasplante, con base en los procedimientos desarrollados por Cervantes de Kacán *et al.* (1981), se

utilizaron frascos de vidrio de 60 x 90 mm, cubiertos con una membrana de plástico CRISTAFLEX, a los cuales se

le colocaron en condiciones asépticas 20 ml del medio P y se colocaron en similares condiciones de oscuridad inicial, posterior intensidad lumínica y temperatura antes mencionadas.

Las observaciones continuaron y alrededor de la semana 13, las plántulas comenzaron a mostrar un desarrollo desordenado de tallos, de 5 a 7 tallos por plántula. Figuras 3 y 4.



Figura 3. Plántulas de papa var. Salentina *in vitro* en diferenciación de tejidos. (Foto A. Marulanda A.).



Figura 4. Plántula de papa *in vitro* var. Salentina con un crecimiento desordenado de tejidos. (Foto A. Marulanda A.).

Algunas de las plantas presentaron desarrollo de tubérculos aéreos 16 semanas después del proceso de multiplicación. Figura 5.



Figura 5. Plántula de papa *in vitro* var. Salentuna presentando la formación de tubérculos aéreos. (Foto A. Marulanda A.).

Como no se buscaba la producción desordenada de tejidos ni de tubérculos aéreos, se siguieron las recomendaciones de Lago (1991), preparando el medio utilizado por él, para el cultivo *in vitro* de microesquejes de papa. Tabla 3

Posteriormente, a las 17 semanas se procedió a la multiplicación del material *in vitro* utilizando las técnicas de multi-

plicación acelerada de microesquejes de papa (CIP,1992). En una cámara de flujo laminar y con cuchillas de bisturí N° 21, en cajas de Petri estériles se sacaron las plántulas y se repicaron, sacando entre 5 y 6 microesquejes por plántula y sembrando cinco microesquejes por frasco de vidrio con 20 ml de medio, en condiciones asépticas como mencionamos anteriormente.

Tabla 3. Composición medio utilizado en este experimento para el desarrollo de microesquejes.

COMPONENTES (mg/l)	MS ESTÁNDAR	MEDIO MODIFICADO
NH ₄ NO ₃	1.650,0	1.250,0
KNO ₃	1.900,0	1.100,0
CaC ₁₂ .2H ₂ O	440,0	--
Ca(NO ₃) ₂	--	307,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,0	170,0
KH ₂ PO ₄	170,0	970,0
Na ₂ EDTA	37,3	37,8
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	--
Fe(SO ₄) ₃ .6H ₂ O	--	50,8
H ₃ BO ₃	6,2	6,2
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3	22,3
ZnSO ₄ .4H ₂ O	8,6	8,6
KI	0,83	0,83
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	0,025
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	0,025
Piridoxina	0,5	1,0
Tiamina	0,1	0,1
Acido Ascórbico	--	3,0
Acido Giberélico	1,0	3,0
Kinetina	0,01	0,25
Adenina	--	0,25
Acido Clorogénico	--	0,1
Sacarosa	30.000,0	10.000,0
Phytigel	9.800,0	9.800,0

Se utilizaron dos ciclos de propagación acelerada de estas plántulas, con base en los programas de micropropagación propuestos por Cervantes de Keeán *et al.* (1981), con el fin de incrementar el número de individuos.

Alrededor de la 21 semana, cuando estas plántulas tenían una altura aproximada de 5 cm fueron transplantadas a un sustrato de arena al 100%, completamente estéril.

Para detectar la presencia de virus se enviaron muestras de follaje de las plantas obtenidas *in vitro*, al Laboratorio Nacional de Semillas de CORPOICA, en Tibaitatá, para ser indexadas para el virus X de la papa (Potato X *potexvirus*, PVX), el virus Y de la papa (Potato Y *potyvirus*, PVY), el virus del Enrollamiento de hojas de la papa (Potato Leafroll *polerovirus*, PLRV), el virus S de la papa (Potato S *carlavirus*, PVS), el virus Latente andino de la papa

(Potato Andean latent *ymovirus*, APLV) por el método de ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay). En la semana 30, con las plántulas libres de virus, se inició un programa de propagación por esquejes, (Figura 6) siguiendo las técnicas sugeridas por Meléndez y Quevedo, 1980; Bryan *et al.*,1981;Cervantes *et al.*,1981 y Manzur,1993⁵, posteriormente se sembraron en bandejas.

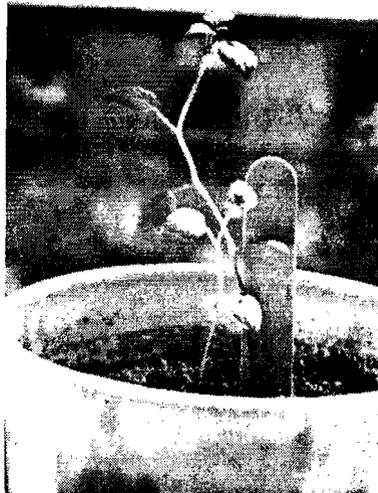


Figura 6. Planta de papa var. Salentuna *in vitro* libre de virus y adaptada a condiciones ambientales. (Foto A.Marulanda A.)

⁵ Entrevista con el Dr. David Manssur, Profesor Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Manizales, 22 de Junio de 1999.

Se indujo la formación de raíces, sumergiendo las esquejes durante 15 a 20 segundos en ácido indolacético al 0,05% y se sembraron en un semillero

en un sustrato conformado por partes iguales de arena y tierra, esterilizado y colocado en bandejas (Figura 7).



Figura 7. Esquejes de papa var. Salentuna obtenidos a partir de plántulas libres de virus. (Foto A. Marulanda A.)

Las bandejas permanecieron en condiciones de alta humedad relativa con la ayuda de una cobertura plástica, la cual fue removida al observar la adaptación de las plántulas, estas se fertilizaron con 14-14-14 en dosis de 1 g/planta, cada mes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los tubérculos colectados en las salidas de campo, se presentaron, en las pruebas fitopatológicas la presencia de:

a) Enfermedades bacteriales: La Pierna negra (*Erwinia carotovora*, L.R. Jones Holland) y la Sarna de la papa (*Streptomyces scabies* (Thaxt.) Waksman & Henrici).

b) Enfermedades fungosas: La Costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani* Kühn), la Gota de la papa (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary).

c) Enfermedades virales: En pruebas por el método de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) el virus X de la papa (Potato X *potexvirus*, PVX), el virus Y de la papa (Potato Y *potyvirus*, PVY), el virus del enrollamiento de hojas de la papa (Potato Leafroll *poterovirus*, PLRV), el virus S de la papa (Potato S *carlavirus*, PVS), el virus Latente andino de la papa (Potato Andean latent tymovirus, APLV).

La mayoría de estos patógenos identificados son diseminados a través de los tubérculos, (Martínez *et al.*, 1998).

Después de haber dejado los tubérculos 15 días como periodo de reposo y de inducir la brotación temprana de estos utilizando ácido giberélico (PROGIBB) la brotación de éstos fué del 100% a partir de los 15 días, con un buen número de ojos y un buen grosor de los tallos.

A los 20 días, se sembraron los tubérculos y a los 35 días comenzó a observarse la germinación, la cual fue igualmente del 100%.

En la terapia de calor en crecimiento activo, se determinó que las mejores plantas para la obtención de meristemas se obtuvieron a los 15 días después de haber entrado al cuarto de terapia, ya que al incrementarse el tiempo de tratamiento comienza a observarse un

proceso de deshidratación de las partes vegetativas lo que dificultó el aislamiento de los meristemas. La cosecha de brotes cada semana se realizó sacando las puntas de los tallos más gruesos y succulentos, obteniendo de ocho a quince esquejes por planta.

Para el cultivo de meristemas *in vitro*, se encontró que los medios A y B ofrecieron un buen desarrollo a los meristemas y plántulas de papa, pero el medio I, presentó un lento crecimiento y un estrés que estimuló la formación de antocianinas, comparado con otras investigaciones (Cervantes *et al.*, 1981).

El medio P, utilizado para plantas diferenciadas, estimuló el desarrollo de callos y tubérculos aéreos y esto no es deseable dentro de un programa de producción de semilla por esquejes, mientras que con el medio desarrollado por Lago, (1991) se observó mejor desarrollo y crecimiento (Figura 8).



Figura 8. Plántula de papa var. Salentina *in vitro*, con hojas, tallos y raíces diferenciadas. (Foto A. Marulanda A.).

En la multiplicación acelerada *in vitro*, cada mes se obtuvieron en prome-

dio cinco microesquejes de cada plántula. Figura 9.

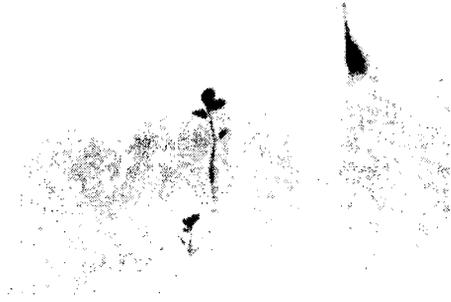


Figura 9. Plántula de papa var. Salentuna *in vitro*, en crecimiento lista para comenzar la fase de repique de microesquejes. (Foto A. Marulanda A.).

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas serológicas realizadas en CORPOICA Tibaitatá, las plantas obtenidas después de la terapia de calor y el cultivo *in vitro* se encuentran libres de los virus relacionados.

Comparando el material obtenido en el laboratorio con la descripción realizada por FEDEPAPA (1999), no se observó ninguna diferencia morfológica con respecto a las características típicas de la variedad.

Las plántulas están listas para su trasplante al suelo y posterior integración a un programa de propagación masiva.

CONCLUSIONES

La inducción a la brotación temprana con ácido giberélico (PROGIBB), resultó ser un excelente tratamiento a utilizar, ya que permitió disminuir el periodo de reposo de esta variedad que normalmente es de 2-3 meses a 1 mes.

La implementación de las técnicas de terapia de calor y cultivo *in vitro* de meristemas de papa, en la variedad Salentina, permitió obtener plantas sanas listas para ser incluidas dentro de un programa de propagación masiva.

Se ha obtenido material de la variedad Salentina libre de las enfermedades más prevalentes en el departamento de Caldas, creándose así las condiciones para la renovación del material de siembra.

Se han establecido las bases para iniciar programas de producción de semilla sana de otras variedades de interés para la región.

Se ha demostrado una vez mas la bondad de las técnicas de terapia de calor y cultivo de meristemas en la obtención de plantas sanas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que el material básico obtenido sea utilizado en programas de propagación acelerada, en condiciones que permitan conservar su sanidad por el mayor tiempo posible, con el fin de crear las bases de un programa de producción de semilla sana de las variedades regionales en el Departamento de Caldas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su reconocimiento a la Dra. Leticia Serna, al Dr. David Manssur Macias y a sus colaboradores de laboratorio por su

asesoría y colaboración.

Expresan su gratitud al Dr. William Roca y sus colaboradores del laboratorio de Biotecnología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), por permitir el proceso de capacitación.

Al Dr. Luis Lago y sus colaboradores de laboratorio de CORPOICA Tibaitatá por su ayuda con las pruebas serológicas. Así mismo a la Universidad de Caldas, por prestar su laboratorio de tejidos; especialmente al grupo de Investigación de Virología Vegetal y a la Fundación de apoyo a la Universidad de Caldas (IGALA), por su permanente apoyo.

A todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

BRYAN, J.E.; JACKSON, M.T.; y MELENDEZ, G. Técnicas de multiplicación rápida de papa. Lima-Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), 1981, p.22.

CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. Compendio de enfermedades la papa. Lima-Perú: CIP, 1980.p.166.

CERVANTES DE KECÁN V, E.; MARTÍNEZ, L., G.; CAMACHO, B. S.; CORZO, C.P. Desarrollo y Adaptación de las Técnicas de Termoterapia y Cultivo de Tejidos para la Limpieza de Virus de las Variedades Colombianas de Papa. Instituto Colombiano Agropecuario. Programa de fisiología Vegetal. En: Boletín de Investigación, Bogotá, N°62. (Ago. 1981); p.129.

COSTA, A. S. Inactivation of viruses and micoplasma in cassava cuttings by heat treatments. *En: Cooperative Project Between the Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) and the Instituto Agronómico (IA) Campinas, Brazil: Centro Internacional de Agricultura Tropical.* 1975. p.34-52.

ESPINOZA, N.; LIZARRAGA, R.; CIGÜEÑA, C.; BUFRON, F.; BRYAN, J. y DODDS, J. Cultivo de Tejidos: micropropagación, conservación y exportación de Germoplasma de Papa. 2ed. Lima-Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP), 1992. p.19.

FEDERACIÓN COLOMBIANA DE PRODUCTORES DE PAPA (FEDEPAPA). Variedades Colombianas de Papa. *En: Papa.* N° 19. (Abril. 1999). p.18.

GUERRERO G, O.; MARTÍNEZ L., G. Evaluación de pérdidas ocasionadas en la variedad de papa ICA PURACE por los virus "Potato Virus X" "Potato Virus Y" y "Potato Leafroll Virus". *En: Fitopatología Colombiana.* Vol 9, No.1 (1980); p.33-40.

KASSANIS, B. Heat Inactivation of Leafroll Virus in Potato Tubers. *En: Annals of the Applied Biology.* Vol. 37 (1950); p.339-341.

KASSANIS, B. Therapy of virus-infected plants. *En: Journal of the Royal Agricultural Society of England.* Vol. 126 (1965); p.105-114.

LAGO, C.L. Cultivo de Tejidos para la Producción de Semilla Básica de papa. p. 447-468. *En: Centro Internacional de*

Agricultura Tropical (CIAT). Cultivo de Tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. Palmira: CIAT, 1991. p.969.

LUJAN, L. Evaluación del cultivo de papa en Colombia. 2ed. Lima, Perú: Centro Internacional de la papa (CIP), 1982. p.104 (Manual de papa N°130).

MARTÍNEZ, L. G.; BETANCOURT, V. M.; CASTRILLÓN, M.M.; ESCOBAR, J.J.; GARCÍA J.S.; MARULANDA A.A.; VARGAS, C.E. Evaluación del estado sanitario de la papa (*Solanum tuberosum* L.), en el Departamento de Caldas. *En: Agronomía. Manizales.* Vol 8, No.2 (Jul. 1998); p. 31-38.

MARTÍNEZ, P. Determinación de la concentración del potato Virus X en yemas caulinares de papa y estudio de cuatro fitohormonas sobre la actividad biológica de este virus. Tesis. Bogotá. Colombia. 1979.p.105.

MELÉNDEZ G., N.; QUEVEDO, B.M. Técnicas de multiplicación rápida de papa. Bolivia: Centro Internacional de la Papa. (CIP), Abril. 1980. p.43.

PRICE, W.C. The thermal death rate of Tobacco-Mosaic Virus. *En: Phytopathology.* Vol 23, No.10 (Oct. 1933); p.149-769.

ROCA, W.M., El cultivo de meristemas de yuca. Palmira: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1980. p.40.

WALKEY, D.G.; COOPER, C.V. Effect of temperature on virus eradication and growth of infected tissue cultures. *En: Annals of Applied Biology.* Vol 80 (1975); p.185-190.

Aprobado para su publicación:
Octubre 4 de 2001