

Resistencia a helada en germoplasma de papa nativa de Bolivia

E. Choque¹, R. Espinoza², X. Cadima³, J. Zeballos³, J. Gabriel³

RESUMEN

En el Centro Experimental Agropecuario Condoriri, Oruro, se evaluaron 82 accesiones de *Solanum andigena*, *S. stenotomum* y *S. x juzepczukii* con el objetivo de estudiar los mecanismos morfológicos asociados a la resistencia a heladas. Se evaluó el rendimiento y los factores morfológicos que contribuyen a la resistencia para heladas como la pigmentación del tallo, el tamaño de células estomáticas, el grosor de pared celular, el área estomática, el hábito de crecimiento de la planta, las capas de empalizada en el tejido parenquimatoso de las hojas y el porcentaje de tejido dañado. Los resultados mostraron que el número de estomas varía según el nivel de ploidía, observándose valores promedios de 60 estomas por campo óptico en *S. x juzepczukii*, 43 en *S. stenotomum* y 38 en *S. andigena*. El área estomática difiere entre especies, *S. andigena* mostró 515,3 μ^2 , *S. stenotomum* tuvo 418 μ^2 , *S. x juzepczukii* mostró 237 μ^2 . Hubo correlación entre la triple capa de empalizada en las células del parénquima y la resistencia a heladas en la especie *S. x juzepczukii*. En *S. stenotomum* se observó una doble empalizada en el parénquima, y tuvo menor porcentaje de daño en follaje. *S. andigena* mostró una capa simple de empalizada y fue susceptible a las heladas. Las accesiones 147, 100, 108, 113, 142 y 96 de *S. x juzepczukii*, tienen tallos de pigmentación morada y hábito de crecimiento arrosado y fueron las más resistentes a heladas. La accesión 100 de *S. x juzepczukii* tuvo el más alto rendimiento (9,8 t · ha⁻¹) y la accesión 69 de *S. andigena* mostró el más bajo rendimiento (1,09 t · ha⁻¹).

Palabras clave: Pigmentación, células estomáticas, pared celular, área estomática, empalizada.

Resistance to frost in landraces potato germplasm from Bolivia

ABSTRACT

In the Experimental Farming Condoriri Center in Oruro, with the objective of morphological study the mechanisms associated with resistance to frost in 82 accessions of *Solanum andigena*, *S. stenotomum* and *S. x juzepczukii* species. It was tested the yield and the morphologic factors that contribute to the resistance to frosts as stem pigmentation, size of stomatic cells, thickness of cellular wall, stomatic area, habit of the plant growing, layers of fence tissue of the leaves and percentage of damaged tissue. The results showed that the number of stomas varies according to the level of ploidy, being observed average values of 60 stomas by optical field in *S. x juzepczukii*, 43 in *S. stenotomum* and 38 in *S. andigena*. The stomatic area differs between species, *S. andigena* showed 515,3 μ^2 , *S. stenotomum* had 418 μ^2 and *S. x juzepczukii* showed 237 μ^2 . There was a correlation between the triple layer of fence in the cells of parenchyma and the resistance to frosts in the *S. x juzepczukii* species. In *S. stenotomum*, one double fence in parenchyma was observed, and it had minor percentage of damage in foliage. *S. andigena* showed a simple layer of fence and was susceptible to frosts. The accession 100 of *S. x juzepczukii* had the highest yield (9,8 t · ha⁻¹) and the accession 69 of *S. andigena* showed the lowest yield (1,09 t · ha⁻¹).

Additional key words: Pigmentation, stomatic cells, cellular wall, stomatic area, fence.

¹ Licenciada en Agronomía, Universidad Técnica de Oruro (UTO), Facultad de Agronomía, Bolivia.

² Docente de la UTO, Oruro, Bolivia.

³ Fundación PROINPA. Casilla 4285. Cochabamba, Bolivia. Correo electrónico: j.gabriel@proinpa.org

Introducción

La papa es uno de los cultivos alimenticios más importantes y difundidos a nivel mundial. En producción de proteína por unidad de tiempo y superficie y en la obtención de energía es superior al resto de los cultivos (Estrada, 2000). En cuanto a producción, la papa ocupa el cuarto lugar, después del arroz, trigo y maíz (FAO, 2004).

En Bolivia ocupa el primer lugar entre los tubérculos cultivados con rendimientos promedio de $5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$, mientras que la media mundial es de $14 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (Horton, 1992; Zeballos, 1997). Su cultivo involucra aproximadamente a 265.000 agricultores en la producción de papa, lo que representa el 50% de las unidades agrícolas del país (Gabriel y Carrasco, 1998) y aún hoy es la principal fuente de alimentación e ingresos. El consumo per cápita es de 80-100 kg/año (Estrada *et al.*, 1994; Zeballos, 1997; Fernández-Northcote *et al.*, 1999).

Artunduaga (1982) y Torrez (1995), indican que la helada es la ocurrencia de una temperatura igual o menor a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ a un nivel de 1,5 a 2,0 m sobre el nivel del suelo, nivel reglamentario a la que se instalan las casetas meteorológicas. Desde el punto de vista agro meteorológico la helada podría definirse como la temperatura a la cual los tejidos de la planta comienzan a sufrir daño, sin embargo es difícil establecer la temperatura crítica para cada cultivo, ya que la severidad del daño depende además de otros factores, como ser: el estado de desarrollo vegetativo y tipo de cultivo, condiciones del suelo y duración de la heladas entre otros.

Las heladas se originan por el enfriamiento de la capa de aire próxima al suelo. Este enfriamiento se origina por la pérdida de calor del suelo por irradiación nocturna en una noche despejada y con calma, a este fenómeno se denomina “inversión térmica”, por ser este un fenómeno contrario al de la gradiente vertical de temperatura disminuye con la altura, en cambio en el fenómeno de inversión térmica, la capa de aire en contacto con el suelo es más fría que la capa inmediatamente superior (Carrasco, 1993).

El daño por heladas es un importante problema en la producción de papa en latitudes altas y en áreas de latitudes bajas. Las pérdidas por las heladas en los Andes ($-3 \text{ }^\circ\text{C}$ a $-4 \text{ }^\circ\text{C}$) causan una reducción estimada de la producción anual de 30% en promedio (PROINPA, 1996; Estrada 2000).

Comparando a *Solanum tuberosum* L., con algunas especies silvestres como *S. acaule*, *S. albicans*, *S. boliviense*, *S. brevicaulis*, *S. bukasovii*, *S. chomatophilum*, *S. canasense*, *S. comersoni*, *S. demissum*, *S. multidissectum*, *S. megistacrolobum*, *S. santae rosae*, *S. sogarandinum*, *S. toralapanu*, *S. tuquerrense*, *S. vernei*, se observó altos niveles de tolerancia a las heladas (Li, 1977; Estrada, 1982 y 2000; Barrientos *et al.*, 1994; Vega y Bamberg, 1995; Hijmans *et al.*, 2003).

Se ha evidenciado también la existencia de valiosas fuentes de tolerancia a heladas en especies cultivadas de *S. andigena*, *S. stenotomum*, *S. ajanhuiri*, *S. x curtilobum* y *S. x juzcepezuk* (Gabriel *et al.*, 1997; Ochoa, 2001). Estrada (2000) menciona que hay al menos unas 15 especies resistentes en los Andes que toleran bajas temperaturas de $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta $-7 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 a 3 horas y se pueden cruzar con las especies cultivadas diploides. Durante más de 20 años utilizó varias de estas especies en cruzamientos con unos 35 cultivares de *S. phureja* y *S. stenotomum* en trabajos efectuados en el CIP (Perú), en el ICA (Colombia) y en PROINPA (Bolivia).

Hijman y Spooner (2001) sugieren que *Solanum acaule* es la especie más tolerante, y también es una de las especies más ampliamente distribuidas. La máxima tolerancia observada en Perú, Bolivia y Norte de Argentina, coincide con la distribución de esta especie (Hijman *et al.*, 2003).

La resistencia a las heladas en varias especies tuberíferas se debe a factores morfológicos como menor tamaño de células estomáticas, paredes celulares gruesas, menor área de estomas, hábito arborescente de la planta, dos o más capas de palizada en el tejido

parenquimatoso de las hojas, factores fisicoquímicos como el contenido de lípidos en las células, capacidad de transformación de almidones hacia azúcares, capacidad de formar hielo extracelular, pigmentos protectores, habilidad para soportar deshidratación celular y mantener la cohesión bajo la presión de congelación (Estrada, 2000).

Reconociendo la importancia de las heladas y de los efectos negativos que producen en el rendimiento en zonas donde se cultiva papa, en los últimos años la Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos (PROINPA) a través de su departamento de Genética y Mejoramiento ha generado nuevos cultivares no amargos, con tolerancia al daño de las heladas, buena capacidad de rebrote, aceptable calidad culinaria y buen rendimiento, constituyéndose de esta manera en una de las alternativas para el agricultor y así aminorar los efectos negativos de las heladas (Gabriel *et al.*, 2001, Estrada, 2000).

Por los antecedentes mencionados, el objetivo de la presente investigación fue estudiar los mecanismos morfológicos asociados con la resistencia y/o tolerancia a helada en 82 accesiones de *Solanum andigena*, *S. stenotomum* y *S. x juzepczukii* del banco de germoplasma del Centro Experimental Agropecuario Condoriri de la Universidad Técnica de Oruro (UTO) en Bolivia.

Materiales y métodos

La presente investigación fue desarrollada en el Centro Experimental Agropecuario Condoriri de la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarias y Veterinarias de la Universidad Técnica de Oruro (UTO). Geográficamente localizado a 17° 31' 41" latitud Sur y 67° 14' 02" longitud Oeste a una altura de 3.830 msnm.

Se utilizaron 82 accesiones de tres especies cultivadas de la Colección de Banco Germoplasma de papa de la UTO: 61 accesiones de *S. andigena* (adg), 14 accesiones de *S. stenotomum* (stn) y siete accesiones de *S. x juzepczukii* (juz).

La parcela experimental fue sembrada en diciembre del 2004, en parcelas distribuidas en diseño completamente aleatorio con dos repeticiones. Los surcos fueron 3 m de largo y 10 tubérculos por surco. La distancia entre surcos fue 0,8 m y la distancia entre plantas de 0,3 m. La superficie total de la parcela experimental fue de 420 m².

Se realizó un aporque y deshierbe a los 49 días después de la siembra cuando las plantas tenían una altura de 25 a 30 cm. Se aplicó el insecticida ambush (piretroide) para controlar gorgojo de los andes (*Premnotripes solani*) y trips (*Franklinella* sp.) a una dosis de 10 cm³ · 100 L⁻¹ de agua y cipertrín a una dosis de 15 cm³ · 20 L⁻¹ de agua. Se arrancó plantas con síntomas de virus. La cosecha se realizó una vez que la planta llegó a su madurez fisiológica y los tubérculos fijaron la piel. Los análisis de varianza y la comparación de medias fueron realizadas utilizando el Proc GLM de SAS para cada una de las variables evaluadas (SAS Users Guide, 1996).

Variables de respuesta

Número y área estomática (A.E)

Se tomaron folíolos de la parte media de la planta de cada especie, y se realizó la separación de la epidermis del envés de la hoja. El recuento del número de estomas se realizó en un microscopio binocular de 40x de aumento, realizando 5 lecturas por campo óptico y 15 lecturas por especie. También se evaluó la longitud y ancho de los estomas. Las lecturas se hicieron en estomas cerrados que se midieron con la ayuda de un micrómetro ocular a un aumento de 40x, y se procedió al cálculo de A.E. empleando la fórmula de un elipsoide.

Número de capas empalizadas del parénquima de la hoja

Se estudió las características citomorfológicas de la hoja, para lo que se tomaron muestras de hojas de la parte media de las tres especies en estudio. Estas hojas fueron llevadas al laboratorio en frascos con agua para mantenerlas turgentes. Se hicieron cortes transversales de las

hojas con micrótopo para obtener tejido y luego se fijaron y sellaron las muestras en porta objeto con esmalte de uñas, adicionando una gota de agua destilada o azul de metileno para la tinción de las células y luego cubrir con cubre objeto. Las muestras fijadas fueron llevadas a un microscopio binocular de 40x de aumento para observar la capa de empalizada de las hojas, donde se realizaron cinco lecturas en cada especie y en tres campos ópticos logrando 15 lecturas por especie y se sacaron fotos de las mejores muestras.

Evaluación del daño por helada

A las 24 horas después de la helada se evaluó el porcentaje de daño, utilizando la escala sugerida por Mendoza y Estrada (1979).

Pigmentación del tallo y hábito de crecimiento

Se caracterizó el grado de pigmentación del tallo y el hábito de crecimiento de las plantas utilizando los descriptores morfológicos de papa del CIP (1979).

Evaluación del rendimiento

Se considero el peso total de tubérculos de cada una de las accesiones. Cada accesión cosechada fue pesada con una balanza de precisión.

Resultados y discusión

Número y área estomática (μ^2)

El análisis de varianza mostró que existe diferencias altamente significativas entre especies ($p < 0,01$), lo que indica que el número de estomas difiere entre especies por campo óptico, con media de 47,13 unidades por campo óptico con un coeficiente de varianza fue de 1,6 %. El número de estomas varía según el nivel ploidía, observándose valores promedios de 60 estomas por campo óptico en el grupo de los triploide *S. x juzepczukii*, que es estadísticamente superior al resto de las especies (Figura 1). En *S. stenotomum* mostró un promedio de 43 estomas por campo óptico y en *S. andigena* se contó 38 estomas por campo óptico. Al respecto Palta y Li (1977), menciona que las especies resistentes a heladas tenían 2-3 veces más número de estomas que las susceptibles.

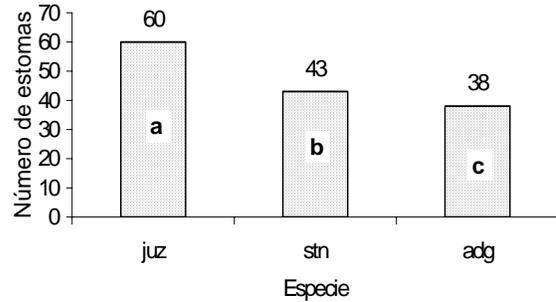


Figura 1. Número de estomas por campo óptico del envés de la hoja por especies.

El análisis de varianza para área estomática (AE) mostró diferencias altamente significativas entre especies ($p < 0,01$), lo que indica que al menos una especie es diferente en AE, con media de $412 \mu^2$ y coeficiente de variación de 6,13 %. Las medias estimadas para AE difieren entre especies. *S. andigena* mostró un área estomática de $515,3 \mu^2$, *S. stenotomum* tuvo $418 \mu^2$ de AE y fue estadísticamente igual a adg. *S. x juzepczukii* mostró un promedio $237 \mu^2$ de AE, siendo estadísticamente diferente a las otras dos especies (Figura 2).

Estrada (1974; 1991; 2000), indica que la resistencia a las heladas de varias especies tuberíferas se deben a factores morfológicos como menor tamaño de células, paredes celulares gruesas, área de estomas menor, hábito arrosado de la planta y dos o más capas de palizada en el tejido parenquimatoso de las hojas.

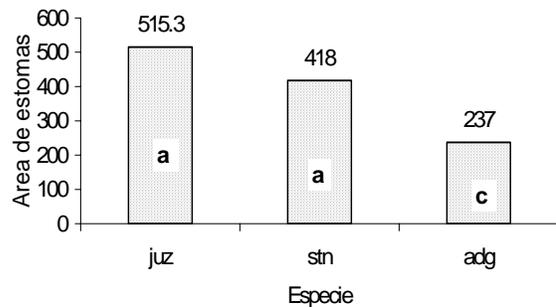


Figura 2. Área de estomas por especie expresada en micras (μ).

Número de capas empalizadas del parénquima de la hoja

En análisis de varianza efectuado para el número de capas empalizadas del parénquima de la hoja mostró diferencias altamente significativas entre especies ($p < 0,01$). Se encontró una alta consistencia entre la presencia de triple capa de empalizada en las células del parénquima y la resistencia y/o tolerancia a las heladas en la especie *S x juzepczukii*. *Solanum stenotomum* mostró una doble empalizada en el parénquima, y fue la especie que tuvo menor porcentaje de necrosidad en el follaje, mostrando un nivel moderado de resistencia y/o tolerancia a heladas (Figura 3).

S. andigena mostró una simple capa de empalizada y es la especie que mayor daño sufrió en follaje por las bajas temperaturas. Los resultados encontrados están indicando que el número de capas empalizadas del parénquima de la hoja, pondría ser un mecanismo de resistencia a heladas, lo cual confirma lo reportado por Palta y Li (1977), quienes encontraron que la especie más tolerantes tenían un triple capa de empalizada en el parénquima, contra una sola capa presente en las especies susceptibles. Por otra parte, Esau (1961), indica que las xerófitas tienen el tejido de empalizada mucho más desarrollado que el tejido esponjoso.

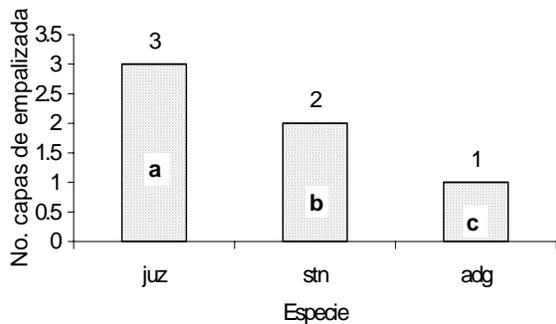


Figura 3. Número capas empalizadas del tejido parenquimatoso de hoja.

Ya que durante la helada, la planta sufre básicamente un fuerte proceso de deshidratación, parece haber lógica entre varios aspectos de similitud en la morfología de plantas resistentes a la sequía y plantas resistentes a las heladas.

La evaluación del largo de las células de empalizada del parénquima, mostró diferencias altamente significativas entre especies ($p < 0,01$) con una media de 132,77 μ de largo y un coeficiente de variación de 2,69%. *S. x juzepczukii* tuvo mayor desarrollo de célula empalizada en el parénquima de la hoja, alcanzando un valor de 168,8 μ de largo, estadísticamente diferente al resto de las especies. *S. stenotum* tuvo 131,2 μ de largo. *S. andigena* mostró 98,2 μ de largo de empalizada (Figura 4). Estos aspectos ya fueron observados por Estrada (2000), quien menciona además que las células en las especies susceptibles están completamente desordenadas y no así en las especies resistentes.

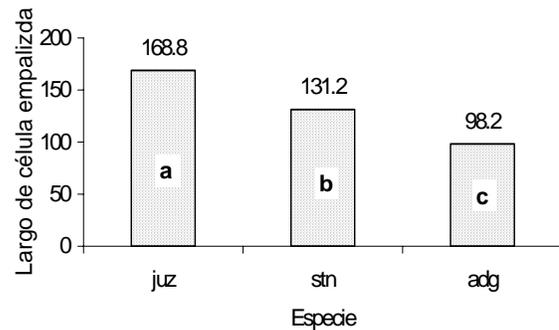


Figura 4. Largo de célula empalizada del parénquima (μ) por especie.

Evaluación del daño por helada (necrosis)

El análisis de varianza para el porcentaje de necrosis por efecto de la primera helada, mostró diferencias altamente significativas entre accesiones ($p < 0,01$), esto indica que al menos una accesión es diferente de las otras a la respuesta en resistencia a heladas, la media fue de 19,98% de necrosis en follaje y el coeficiente de variación fue de 18,57%. La helada registrada fue de -2 °C a las 7:15 a.m., se observó que la temperatura mínima desciende desde las 6:00 a.m. (-0,5 °C) alcanzando un máximo de -1,7 °C a las 7:00 a.m.

La comparación de medias de necrosis (daño) mostró que las accesiones 230 y 226 de *S. andigena* presentaron mayor porcentaje de necrosis (50%), mientras que las accesiones 232, 69, 43 y 54 mostraron el menor porcentaje de

necrosis (6%). Las accesiones 96, 142, 147, 113 y 108 mostraron 0% de necrosis. Estas pertenecen a la especie triploide *S. x juzepczukii*.

La Figura 5, muestra el porcentaje de necrosis en el follaje de las tres especies evaluadas donde *S. andigena* mostró el mayor daño en follaje (23,12%), seguida por *S. stenotomum* con 15,54% de daño en follaje y *S. x juzepczukii* que mostró ser significativamente diferente a las dos especies anteriores con un 1,43% de necrosis.

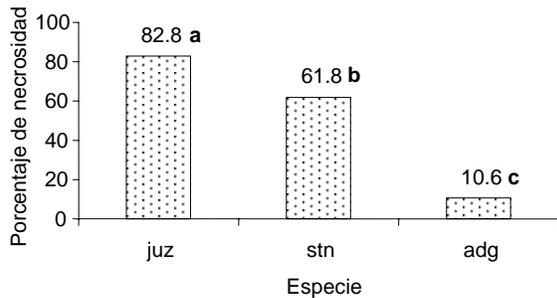


Figura 5. Análisis de medias del porcentaje de necrosis en follaje ($P < 0,01$).

La segunda helada fue registrada en abril del 2005 con temperatura mínima de $-0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ a las 4:00 a.m., alcanzando un máximo de $-3,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ a las 7:00 a.m. En la comparación de medias de necrosis (daño) mostró que las accesiones más afectadas en follaje fue la 230 con 95% de necrosis (Figura 2). Las accesiones con menor daño al follaje fueron: la 113, 108, 100, 142 y 147 con 8; 6,5; 4; 3 y 2,5 de porcentaje de necrosis respectivamente y estas corresponden a la *S. x juzepczukii* (Figura 6).

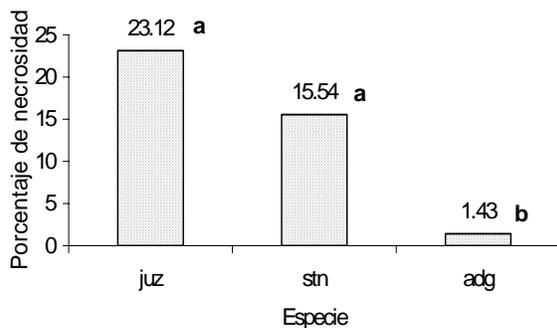


Figura 6. Análisis de medias del porcentaje de necrosis en follaje al $p=0,01$ de probabilidad.

S. andigena tuvo un 82,8% de necrosis, estadísticamente diferente en susceptibilidad a bajas temperaturas a *S. stenotomum* (61,8% de necrosis). *S. x juzepczukii* fue resistente (10,6 % de necrosis) (Figura 6). Las accesiones de la especie *S. juzepczukii* mostraron ser las más resistentes en ambas heladas, lo que había sido observado en investigaciones previas (Estrada 1974). Barrientos (1996), reporto 90 accesiones de *S. x juzepczukii* en banco de germoplasma de papas nativas del altiplano. Por otra parte Rocha (1995), evaluó tres especies y 10 accesiones en cada especie de papa del Banco de Germoplasma de Bolivia, encontrando que las especies *S. x juzepczukii* y *S. ajahuiri* son los de mayor resistencia a heladas.

Pigmentación del tallo y hábito de crecimiento

La caracterización morfológica en campo mostró que las accesiones difieren en el grado de pigmentación del tallo dentro de una misma especie, el cual parece ser un mecanismo de protección contra el frío (Estrada 2000; Gabriel *et al.*, 2001). Las accesiones 147, 100, 108, 113, 142 y 96 de *S. x juzepczukii*, mostraron los tallos de pigmentación morada y resultaron ser las más resistentes a las heladas. Se observó que accesiones con tallo pigmentado con poco verde y verde con abundante pigmentación, también fueron resistentes a bajas temperaturas, en comparación a las accesiones susceptibles que no presentaban pigmentación en el tallo como las accesiones 230 y 226 de *S. andigena*.

Chen *et al.*, (1997), señalan que las líneas de papa más adaptadas al frío generalmente están más pigmentadas los tallos. Realizaron una prueba a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura donde encontraron en progenies de una misma familia que las líneas con pigmento eran más resistentes que sus hermanas de muy escaso pigmento en el tallo. Estrada (2000), observó híbridos donde los más resistentes, generalmente eran más pigmentados.

Las accesiones 147, 100, 142, 113, 108 y 96 de la especie *S. x juzepczukii* fueron de hábito de crecimiento arrossetado con tallos cortos, lo que hace que la planta permanezca más cerca del suelo y haya una menor exposición del follaje a las heladas. Esto le da a la planta su protección y

atrapa el calor del suelo, evitando su mayor pérdida de radiación (Mendoza y Estrada, 1979). Las accesiones de *S. andigena* (230, 226 y 229) que fueron de hábito de crecimiento erecto, fueron susceptibles. Estos resultados confirman lo observado por Mendoza y Estrada (1979), quienes indican que con frecuencia se observa que las especies de papa más resistente tienen un hábito de crecimiento de tipo arrosetado.

Evaluación del rendimiento

El análisis de varianza para el rendimiento mostró diferencias altamente significativas entre accesiones ($p < 0,01$), esto indica que al menos una accesión es diferente a las demás en el rendimiento dentro de una misma especie, con una media de $4,5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ y coeficiente de varianza de 21%. En la comparación de medias (Figura 7), se observó que la accesión 100 (*S. x juzepczukii*) tuvo el más alto rendimiento ($9,8 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) y la accesión 69 (*S. andigena*) tuvo el menor rendimiento ($1,09 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$). Al respecto, Carrillo (1998) en una evaluación de calibración del modelo lintul para describir el efecto de las heladas sobre el rendimiento de cultivo de papa, encontró que la especie *S. x juzepczukii* tuvo un rendimiento de $6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$.

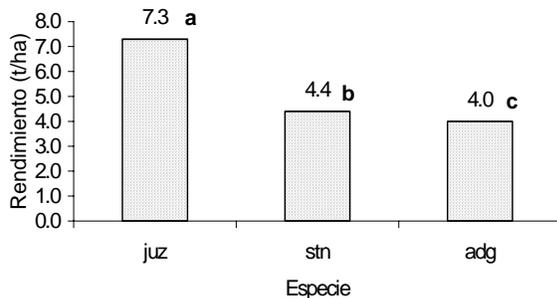


Figura 7. Rendimiento por especie en $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Por otra parte Estrada (2000), indica que los clones con alta resistencia en el follaje generalmente son de bajo rendimiento, pues usan toda su reserva metabólica en la defensa del follaje y deja muy poca reserva para la tuberización.

Literatura Citada

Artunduaga, R. y Torrez, E. 1982. Principios básicos de la ocurrencia de las heladas y su control. Ed. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) San José, Costa Rica. 33 p.

Barrientos, E. 1996. Identificación de clones del germoplasma de papa nativas del Altiplano tolerantes a heladas. En: Comisión organizadora IV Reunión Nacional de Papa, IBTA – PROINAPA (eds.). Reunión Nacional de la Papa. Compendio de expositores. p. 163 – 164

Barrientos, M.; Mol, E.; Perruzo, G.; Contreras, A. y Alberdi, M. 1994. Responses to cold of Chilean wild *Solanum* species. Environ. Exp. Bot. 34: 47–54.

Carrasco, E. 1993. Estudios de la herencia de las heladas en clones nativos *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* de Bolivia. Universidad Agraria La Molina. Lima – Perú. 52 p.

Carrillo, C. R. 1998. Calibración del modelo de simulación lintul para describir el efecto de las heladas sobre el rendimiento de cultivo de papa. U.T.O, Oruro, Bolivia. p. 50-52

Chen, P.; Burke, M. y Li, P. 1997. Frost hardiness of several *Solanum* species in relation to amount of infrozen water, melting point depression of cell sap, and tissue water content. Bot. Gaz. 137: 313-317.

Esau, K. 1961. Leaf structure and environment, En: Anatomy of seed plants. Sons, New York, p. 277 – 281.

Estrada, R.N. 2000. La Biodiversidad en el Mejoramiento Genético de la papa. Bill Hardy, Emma Martinez (eds.) La Paz, Bolivia. 372 p.

Estrada, R.N.; Fernández-Northcote, E.; Carrasco, E. y Navia, O. 1994. Mejoramiento Genético para Resistencia a Enfermedades y plagas de la papa en Bolivia. En: Broers, L.H.M. (ed.). Resistencia Duradera en Cultivos Alto Andinos, Memorias del 1er taller sobre Resistencia Duradera en Cultivos Alto Andinos.

30 de mayo–3 de junio de 1.994. Quito, Ecuador. p. 86-89.

Estrada, R.N. 1991. Importancia genética de las papas amargas. *En: Mesa redonda, La Paz, Bolivia –Perú*, pp. 11-13.

Estrada, R.N. 1974. Mejoramiento genético de la papa resistencia a enfermedades. *En: Nuevos Enfoques para el Mejoramiento Genético En Papa Para La Subregión Andina, Quito, Ecuador*. p. 46-55

Estrada, R.N. 1982. Breeding wild and primitive potato species to obtain frost-resistant cultivated varieties. *En: Li, P.H., Sakai, A. (eds.), Plant Cold Hardiness & Freezing Stress: Mechanisms and Crop Implications*. Academic Press, New York. 2: 615–633

FAO. 2004. (Faostat) Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases (FAO) (<http://faostat.fao.org>; 25/04/2.004).

Fernández-Northcote, E.; Navia, O. y Gandarillas, A. 1999. Bases de las estrategias de control químico del tizón tardío de la papa desarrolladas por PROINPA en Bolivia. *Revista ALAP 1(1)*: 1- 25

Gabriel, J. y Carrasco, E. 1.998. Evaluación Preliminar de la Resistencia Durable al tizón *Phytophthora infestans* en Cultivos Nativos de Papa del Banco de Germoplasma Boliviano. *En: Danial, D., Chicaiza, O. (eds.). Segundo Taller de PREDUZA en Resistencia Duradera en cultivos Altos en la Zona Andina*. 22-24 Septiembre de 1.998. Cochabamba, Bolivia. p 153-158.

Gabriel J.; Carrasco, E.; García, W.; Equize, H.; Thiele, G.; Torrez, R.; Ortuño, N.; Navia, O.; Franco, J. y Estrada, N. 2.001. Experiencias y logros sobre mejoramiento convencional y selección participativa de cultivares de papa en Bolivia. *Revista ALAP 1(1)*: 169-192.

Horton, D. 1992. La papa, producción, comercialización y programas. CIP, Lima y Hemisferio Sur, Montevideo, Uruguay. 270 p.

Hijman, R.J.; Jacobs, M.; Bamberg, J. y Spooner, D.M. 2003. Frost tolerance in wild potato species: Assessing the predictivity of taxonomic, geographic, and ecological factors. *Euphytica 130*: 47-49.

Hijman, R.J. y Spooner, D.M. 2001. Geographic distribution of wild potato species. *Amer. J. Bot.* 88: 2101-2.112.

Li, P. y Palta, J. 1977. Frost killing temperatures of 60 tuber-bearing *Solanum* species. *Amer. Potato. J.* 54: 452–456.

Mendoza, H. A. y Estrada, R. N. 1979. Breeding potato for tolerance to stress and frost. *En: Mussell, H., Staples, R. (eds.). International Potato Centre Stress physiology in crop plant*. p. 228-262

Ochoa, C. 2001. Las papas de Sudamérica: Bolivia. Plural editores/CID. 535 p.

Palta, J. y Li, P. 1977. Anatomical characteristics associated with frost hardiness in several *Solanum* species. *Plant Physiol.* 59 (suppn). 196 p.

PROINPA. 1996. Selección y difusión de cultivares con tolerancia a factores abióticos. *En: Informe anual Compendio 1.994-1.995 IBTA-PROINPA, CIP. COTESU. Cochabamba-Bolivia*. p. 29-33

Rocha, M. J. 1995. Caracterización morfológica y evaluación genética por resistencia a heladas de tres especies de papa del Banco de Germoplasma boliviano. UMSS, Cochabamba, Bolivia. p. 49-51

SAS Institute Inc. 1996. SAS/STAT Users Guide, Version 6, Fourth Edition, Vol. 2, SAS Institute Inc., Cary, N.C.

Torrez, E. 1995. Agrometeorología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Ed. Trillas México. 150 p.

Vega, S.E. y Bamberg, J.B. 1995. Screening the U.S. potato collection for frost hardiness. *Amer. Potato. J.* 72: 13–21.

Zeballos, H. 1997. Aspectos Económicos de la Producción de papa en Bolivia. COSUDE, CIP (Centro Internacional de la Papa). Lima, Perú. 177 p.