

Propagación *in vitro* de variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis'

Leyanis García-Águila^{1*}, Mayelin Rodríguez¹, Mariana La O¹, Marta Pérez¹, Yelenys Alvarado-Capó¹, Manuel de Feria¹, Novisel Veitía¹, Deivis Mirabal¹, Juan Castillo². *Autora para correspondencia

¹Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: leyanis@ibp.co.cu

²Instituto Nacional Ciencias Agropecuaria (INCA). Carretera a Tapaste km 3.5. Gaveta Postal 1. San José de las Lajas. Mayabeque. Cuba.

RESUMEN

Las técnicas de cultivo *in vitro* se utilizan para apoyar los procesos de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) porque garantizan la rápida propagación de variedades promisorias, alta estabilidad genética y calidad fitosanitaria. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de cuatro variedades de papa 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' durante el proceso de propagación *in vitro*. Se establecieron meristemos (0.3-0.5 mm de longitud), se multiplicaron las plantas y se formaron microtubérculos. Se describieron durante todo el proceso de propagación *in vitro* las características morfológicas del material vegetal. El porcentaje de supervivencia de los meristemos y el coeficiente de multiplicación se calcularon y se cuantificó el número de microtubérculos por planta. Los resultados mostraron la respuesta diferencial de las variedades durante su propagación *in vitro*. 'Yuya' e 'Ibis' presentaron los mayores porcentajes de supervivencia de meristemos, con alta frecuencia de plantas de morfología normal, presencia de hojas y raíces. La formación de microtubérculos con diámetro entre 0.1 a 1.0 cm se produjo en todas las variedades y el mayor número por planta se obtuvo en la variedad 'Marinca'. Estos resultados proporcionan información importante que permitirá establecer indicadores de calidad y planificación durante el proceso de propagación *in vitro* de las variedades cubanas de papa.

Palabras clave: meristemos, microtubérculos, morfología, papa, supervivencia

In vitro propagation of Cubans varieties of *Solanum tuberosum* L. 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' and 'Ibis'

ABSTRACT

The *in vitro* culture techniques are used to support the production processes of potato seed (*Solanum tuberosum* L.) because it ensure the rapid propagation of promising varieties, genetic stability and high quality plant. This study aimed to determine the response of four potato varieties 'Yuya' 'Marinca' 'Grettel' and 'Ibis' during *in vitro* propagation. Meristems were established (0.3-0.5 mm long), multiplied plants and microtubers were formed. During the process of *in vitro* propagation it were described the morphological characteristics of the plant material. The percent survival of the meristems and the multiplication coefficient were calculated and the number of microtubers per plant was quantified. The results showed a differential response of varieties during *in vitro* propagation. 'Yuya' and 'Ibis' had the highest survival meristem rates, high frequency of plants with normal morphology characterized by dark green color, stem of between 2.5 and 4.5 cm in length and presence of leaves and roots. The microtubers formation with diameters between 0.1 to 1.0 cm occurred in all varieties and the highest number per plant was obtained in variety 'Marinca'. These results provide important information that will establish quality and planning indicators during *in vitro* propagation of Cuban potato varieties.

Key words: meristems, microtubers, morphology, potato, survival

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es uno de los cultivos alimenticios más importantes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Por su alto valor nutritivo se

considera estratégica para solucionar los problemas del hambre en el mundo (Castro *et al.*, 2012).

Las técnicas de cultivo *in vitro* se utilizan para apoyar los procesos de producción de semilla

de papa porque garantizan la rápida propagación de variedades promisorias, una alta estabilidad genética y la sanidad del material vegetal. Las plantas y microtubérculos obtenidos *in vitro* son plantados en casas de cultivo para la producción de minitubérculos, los cuales constituyen la semilla original de papa que posteriormente transitará por las categorías básica, certificada y registrada mediante sucesivas multiplicaciones en campo (Jiménez-Terry *et al.*, 2010).

En Cuba se establecen las condiciones para la producción de semilla de papa con el empleo de técnicas biotecnológicas y se trabaja en el desarrollo de nuevas variedades a través del Programa de mejoramiento genético del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Como resultado se cuenta con un grupo de variedades cubanas adaptadas a las condiciones climáticas y con resistencia o tolerancia a las principales enfermedades del cultivo entre los que se encuentran 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' (Estévez *et al.*, 1998; Castillo *et al.*, 2006; Castillo *et al.*, 2011).

La propagación *in vitro* es indispensable para la rápida producción de semilla e introducción de estas variedades a condiciones de producción. Sin embargo, no se conoce su respuesta a las condiciones de cultivo *in vitro* lo cual es necesario antes de comenzar un programa de propagación *in vitro* a gran escala (Srivastava *et al.*, 2012). Teniendo en cuenta los antecedentes anteriormente descritos este trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de cuatro variedades de papa 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' durante el proceso de propagación *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Tubérculos de las variedades 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' procedentes de plantas negativas a los principales microorganismos patógenos del cultivo.

Cultivo *in vitro*

Los tubérculos se lavaron con agua corriente para eliminar restos de suelo, se secaron al aire y se colocaron en condiciones de oscuridad total hasta la brotación de sus yemas.

A partir de brotes con aproximadamente 2.0 cm de longitud se extrajeron meristemas. Los brotes fueron separados de los tubérculos y se colocaron en recipientes de cultivo de 250 ml de capacidad total para su desinfección superficial (Figura 1 a b). El proceso de desinfección se realizó con una solución de etanol al 70.0% durante dos minutos y posteriormente se añadió hipoclorito de sodio al 1.0% (v/v i.a) por 10 minutos. Seguidamente se efectuaron tres lavados sucesivos con agua destilada estéril.

La extracción de los meristemas se realizó en la cabina de flujo laminar con el empleo de un microscopio estereoscópico (Figura 1 c). Las hojas fueron separadas y cortadas hasta dejar el domo meristemático acompañado de tres primordios foliares con una longitud aproximada de 0.3- 0.5 mm. La medición se efectuó con una escala milimétrica presente en el ocular del microscopio estereoscópico.

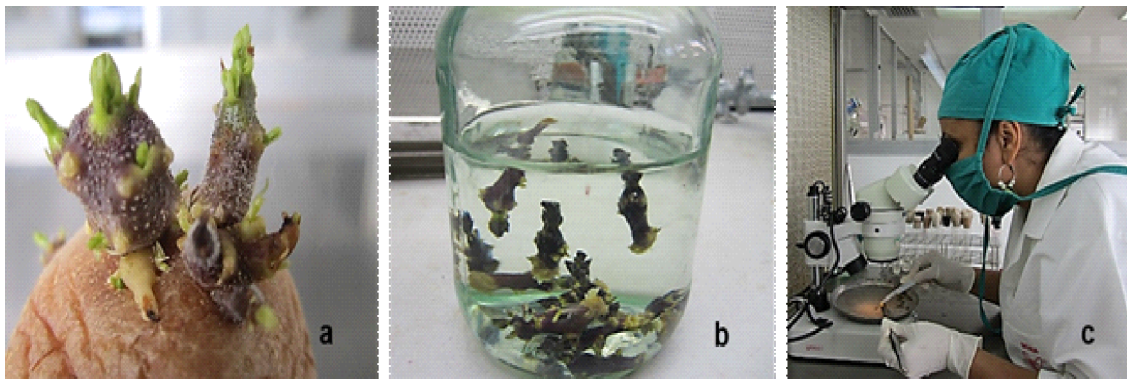


Figura 1. Brotes en tubérculos de la variedad 'Marinca' (a). Desinfección de los brotes con solución de hipoclorito de sodio (b). Extracción de meristemas de papa bajo el microscopio estereoscópico (c).

Los meristemos se colocaron en tubos de ensayo (15.0 x 2.0 cm) sobre 10 ml de medio de cultivo compuesto por el 100% de las sales y vitaminas propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS) (DUCHEFA), 100 mg l⁻¹ de mio-inositol, 20 g l⁻¹ de sacarosa, y 2.5 g l⁻¹ de Gelrite®. El pH se ajustó a 5.7 previo a la esterilización en autoclave.

Los tubos de ensayo con los meristemos se colocaron a 20±2 °C y fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Se utilizaron lámparas fluorescentes (PHILIPS TLD, 58 W/84) con intensidad lumínica de 37.5-43.7 μmol m⁻² s⁻¹.

A los 30 días de cultivo, se cuantificó el número de meristemos vivos y se calculó el porcentaje de supervivencia. Como criterio de vitalidad se consideró el aumento del tamaño y la coloración verde de los tejidos. Además, a los 50 días de cultivo se realizó una descripción morfológica de las plantas regeneradas a partir de los meristemos, basada en sus características, color e intensidad del color de tallos y hojas. Se establecieron 20 meristemos por variedad.

Las plantas se multiplicaron mediante el corte de las yemas apicales y axilares (explantos). Los explantes se colocaron en medio de cultivo de similar composición al descrito anteriormente, con modificación en el contenido de sacarosa a 30 g l⁻¹ y esterilización química con la adición de 116 mg l⁻¹ de Vitrofur® (35 mg l⁻¹ i.a). Se utilizaron recipientes de cultivo de 500 ml de capacidad total con 60 ml de medio de cultivo y se colocaron 20 explantes por cada uno. Las condiciones de cultivo fueron iguales a las utilizadas para el establecimiento de meristemos.

Se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado, donde se establecieron 20 réplicas (recipiente de cultivo) por cada variedad y tres subcultivos (cada 28 días). En cada subcultivo se calculó el coeficiente de multiplicación de las plantas de cada variedad a través de la siguiente expresión matemática: Coeficiente de multiplicación=

número de explantes final/ número de explantes inicial.

Además, en cada variedad con el objetivo de formar microtubérculos se emplearon plantas *in vitro* con seis subcultivos de multiplicación (15 recipientes de cultivo con 20 plantas cada uno, para un total de 300 plantas *in vitro*) que se encontraban en sus recipientes de cultivo a las cuales se adicionaron 20 ml medio de cultivo líquido compuesto por el 100% de las sales de MS (DUCHEFA) y 80 g l⁻¹ de sacarosa. El pH se ajustó a 5.7 antes de la esterilización en autoclave.

Los recipientes de cultivo se colocaron en condiciones de oscuridad total a 20±2 °C. A los 60 días de cultivo, se realizó una descripción morfológica basada en el color e intensidad del color de tallos, hojas y microtubérculos. Para determinar el color se utilizó el código hexadecimal de colores (<http://www.cwp.linnet.edu/cwis/cwp.html>). Seguidamente, se cuantificó el número de microtubérculos por planta y se midió el diámetro (cm).

Análisis estadístico

El procesamiento estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 21 para ambiente del sistema operativo Windows de Microsoft®. Como procedimiento común para todas las variables, se efectuó la comprobación de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas. Las pruebas se efectuaron con un nivel de significación de 0.05. Los datos correspondientes al porcentaje de supervivencia se compararon mediante la prueba Mann-Whitney, mientras que los datos del coeficiente de multiplicación y número de tubérculos por planta se compararon mediante la prueba de Dunnett C.

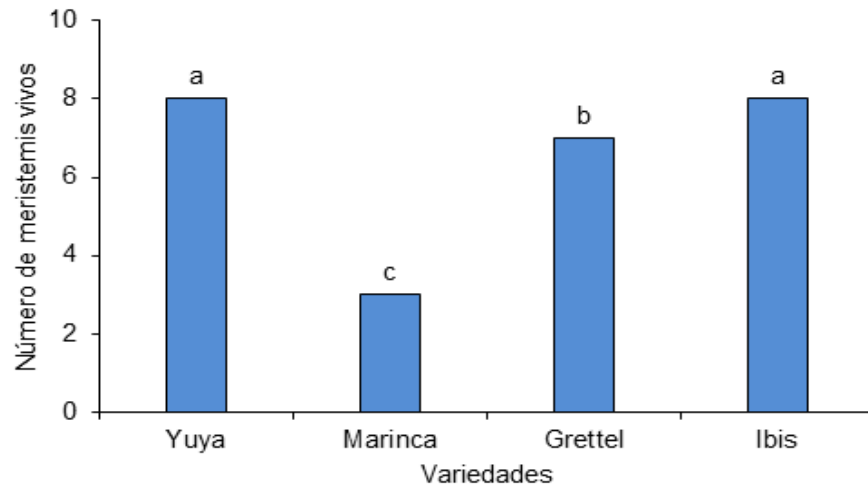
RESULTADOS

A los 30 días de cultivo, se observaron diferencias significativas entre las variedades con respecto al porcentaje de supervivencia de los meristemos. Las variedades 'Ibis' y 'Yuya' mostraron los mayores valores sin diferencias significativas entre ellos y sí con los restantes (Figura 2).

Las plantas regeneradas a partir de los meristemos mostraron diferencias en su morfología y se identificaron dos grupos. Un grupo de plantas se caracterizó por presentar una coloración verde oscuro (código: 336F1F), tallos rectos de entre 2.5 y 4.5 cm de longitud que se formaron a partir del domo meristemático, con entrenudos a intervalos regulares y la presencia de hojas y raíces. Las plantas con estas características se

consideraron como plantas de morfología normal (Figura 3 a).

El otro grupo mostró una coloración verde claro (código: 84DD84), tallos de menor longitud entre 0.5 y 1.5 cm, entrenudos cortos, hojas con aspecto hiperhídrico y ausencia de raíces (Figura 3 b). Estas fueron designadas como plantas fuera de tipo. Ambos grupos de plantas se observaron en las cuatro variedades objeto de estudio.



Letras distintas sobre barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Mann-Whitney para $p \leq 0.05$

Figura 2. Influencia de la variedad en la supervivencia de meristemos de cuatro variedades cubanas de papa a los 30 días de cultivo. $n=60$.

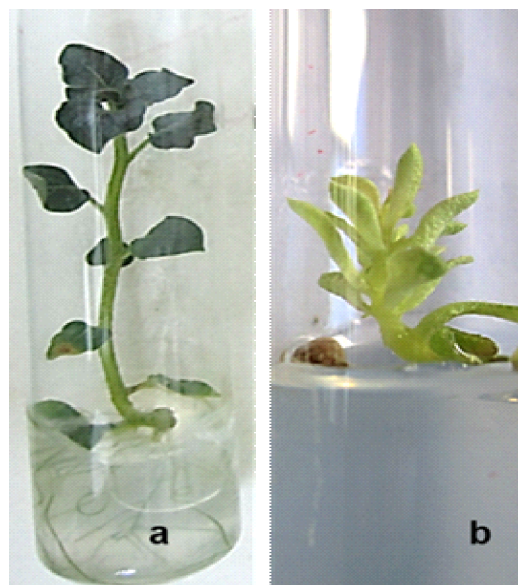


Figura 3. Plantas obtenidas a partir del cultivo de meristemos de las variedades cubanas de papa, a los 50 días cultivo. Plantas con morfología normal (a) y plantas con morfología fuera de tipo (b).

La frecuencia de aparición de los dos tipos de plantas varió entre las variedades. En ‘Marinca’, ‘Ibis’ y ‘Yuya’ más del 50% de las plantas mostraron una morfología normal. Por otra parte, en la variedad ‘Grettel’ se observó una mayor frecuencia de plantas con morfología fuera de tipo (Figura 4). Las plantas con estas características se descartaron del proceso de propagación *in vitro* por no ser posible su multiplicación.

En todas las variedades se logró multiplicar las plantas. Se observó la formación de tallos, hojas y raíces a partir de los explantes iniciales. En ‘Yuya’ e ‘Ibis’ aparecieron plantas con la presencia de dos tallos por la brotación de las

yemas axilares cercanas a la base de la planta. Este aspecto trajo como consecuencia el incremento del coeficiente de multiplicación en estas variedades, con diferencias significativas con respecto a ‘Marinca’ y ‘Grettel’ (Figura 5).

Al finalizar el proceso de tuberización, las plantas de las cuatro variedades mostraron similares características con tallos de color verde oscuro (código: 336F1F) hacia la porción basal y amarillo claro (código: D9F294) en la zona apical. Se observaron raíces y estolones de color blanco crema (código: F6F7E6) en la base de las plantas y en las yemas axilares con crecimiento en dirección apical. Las hojas mostraban síntomas de clorosis y necrosis.

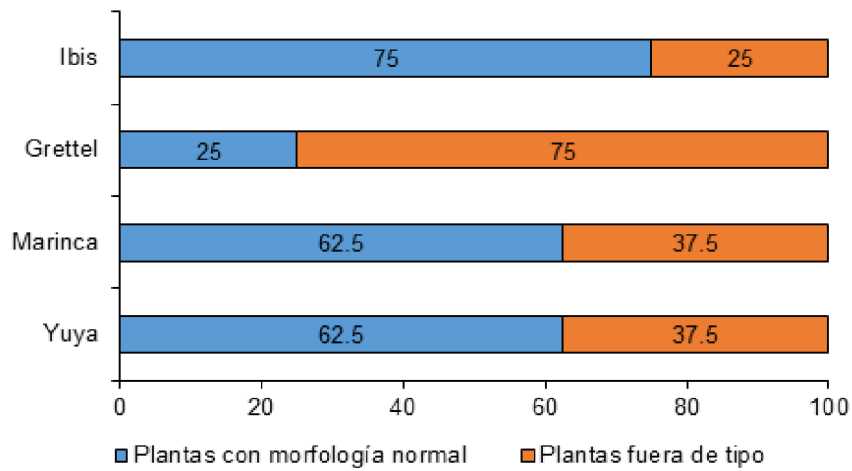
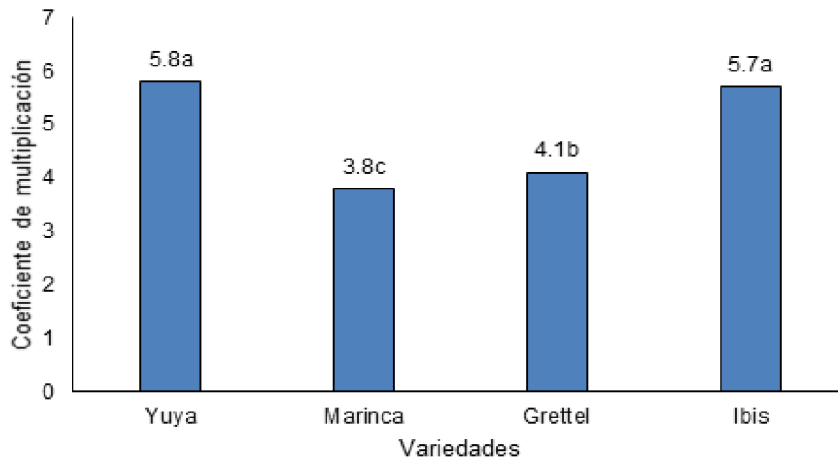


Figura 4. Frecuencia de aparición de la morfología normal y fuera de tipo en plantas obtenidas a partir de meristemos de variedades cubanas de papa, a los 50 días de cultivo. n=60.



Letras distintas sobre barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Dunnett C para $p \leq 0.05$

Figura 5. Coeficiente de multiplicación de las plantas propagadas *in vitro* de cuatro variedades cubanas de papa a los 28 días de cultivo. Valores medios de tres subcultivos.

De igual manera, todas las variedades formaron microtubérculos con colores que variaban del blanco crema (código: F8F8F3) hasta el rosado claro (código: F8E9E4) y oscuro (código: CC5D5D) (Figura 6). El diámetro de los microtubérculos osciló entre 0.1 a 1.0 cm con una mayor frecuencia en el rango de

0.1 a 0.5 cm. Estos se ubicaban principalmente en la zona apical y central de la planta.

La variedad 'Marinca' mostró el mayor número de tubérculos por planta con diferencias significativas con respecto al resto (Figura 7).

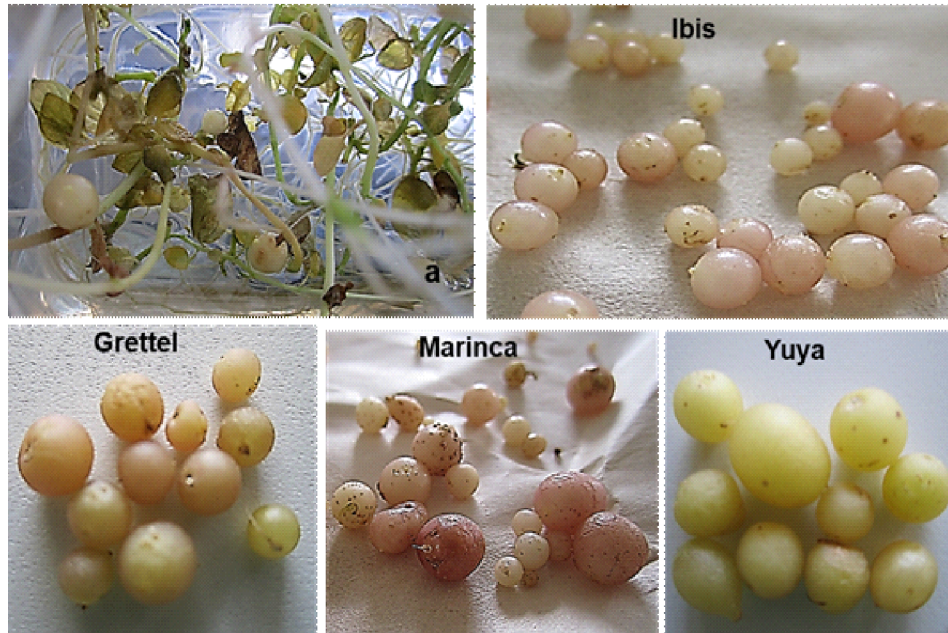
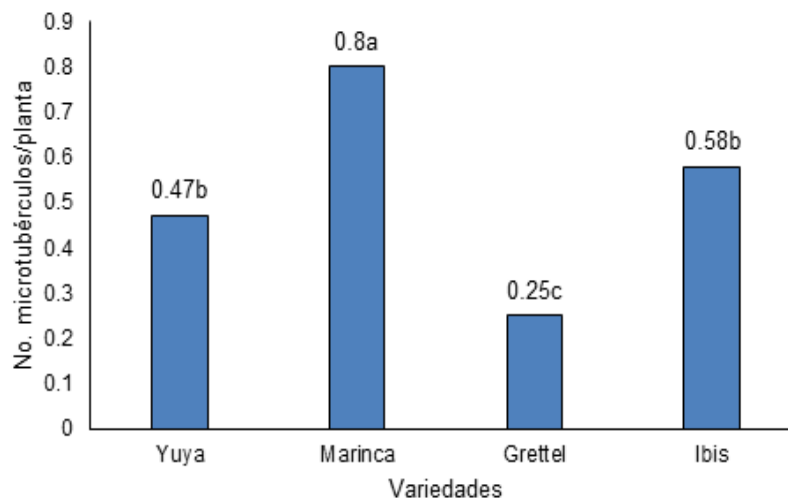


Figura 6. Microtubérculos de papa colectados de plantas propagadas *in vitro* de las variedades cubanas. Plantas con microtubérculos de la variedad 'Ibis', a los 60 días de cultivo (a).



Letras distintas sobre barras indican diferencias significativas entre las medias según la prueba Dunnett C para $p \leq 0.05$

Figura 7. Número de microtubérculos por planta de cuatro variedades cubanas de papa a los 60 días de cultivo. $n=300$.

Tabla 1. Características de cuatro variedades cubanas en la propagación *in vitro* en medios de cultivo libres de reguladores de crecimiento.

Característica	Variedad			
	'Yuya'	'Marinca'	'Grettel'	'Ibis'
Supervivencia de meristemos (%)	80.0	30.7	70.2	81.0
Plantas fuera de tipo (%)	37.5	37.5	75.0	25.0
Color del tallo	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***
Color de las hojas	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***	Verde oscuro (cód: 336F1F)***
Formación de raíces	sí	sí	sí	sí
Coefficiente de multiplicación*	5.80	3.80	4.10	5.70
No. microtubérculos por planta**	0.47	0.80	0.25	0.58
Color de la piel del microtubérculo	Crema (cód: F8F8F3)***	Rosado oscuro (cód: CC5D5D)***	Rosado claro (cód: F8E9E4)***	Rosado claro (cód: F8E9E4)***
Forma del microtubérculo	Esférico	Ovoide/esférico	Esférico	Esférico

*Valores medios de tres subcultivos. ** plantas *in vitro* en medio de cultivo semisólido al que se añadieron 100 ml de medio de cultivo líquido (Sales MS y sacarosa 80 g l⁻¹), 60 días en oscuridad y 20±2 °C. *** Código hexadecimal de colores (<http://www.cwp.linnet.edu/cwis/cwp.html>)

Las características predominantes de estas variedades en la propagación *in vitro* en medios de cultivo sin reguladores del crecimiento se resumen en la tabla 1. Se incluyen solo las características de las plantas definidas como normales.

DISCUSIÓN

En la literatura científica no se han encontrado antecedentes sobre la propagación *in vitro* de las variedades cubanas de papa 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis'. Mediante este estudio fue posible conocer su respuesta *in vitro* en medios de cultivo sin reguladores del crecimiento. Ello ofrece la posibilidad de observar su potencial tanto para la obtención de plantas *in vitro* como de microtubérculos que se emplean comúnmente en los programas de producción de semilla de este cultivo (Dobránszki *et al.*, 2008).

Se apreció en todas las variedades la aparición de plantas con características morfológicas diferentes (fuera de tipo) con mayor porcentaje

en la variedad 'Grettel'. Aunque se ha descrito que las condiciones del cultivo *in vitro* inducen desórdenes en las plantas (Hazarica, 2006) este aspecto ha sido poco abordado en los trabajos sobre propagación *in vitro* de papa y en este estudio no se realizaron otros experimentos que aportaran evidencias sobre las posibles causas. Sin embargo, identificar plantas con estas características y eliminarlas del proceso productivo tiene gran importancia para garantizar el cumplimiento de las estrategias productivas.

En este trabajo se demostró la influencia del genotipo en el establecimiento de meristemos, multiplicación de plantas y formación de microtubérculos de estas variedades en las mismas condiciones experimentales. Ello ha sido descrito previamente por diferentes autores en otras variedades de papa (Gopal *et al.*, 1998; Dobránszki *et al.*, 1999; Ranalli *et al.*, 1994; Hossain, 2005). Los mejores resultados durante la iniciación del cultivo *in vitro*, la supervivencia de sus meristemos así como regeneración de plantas con

características favorables para su multiplicación se obtuvieron en las variedades 'Yuya' e 'Ibis'. Sin embargo, la variedad 'Grettel' se mostró recalcitrante al cultivo *in vitro*. El 75.0% de sus meristemas formaron plantas con características fuera de tipo y las plantas restantes mostraron baja formación de microtubérculos. Por otra parte, la variedad 'Marinca' presentó los menores valores de establecimiento de meristemas, aunque con formación de plantas a partir de las cuales se produjo la mayor formación de microtubérculos con respecto al resto de las variedades estudiadas. Conocer el potencial de las variedades cubanas permitirá definir estrategias para su propagación masiva por técnicas biotecnológicas y su uso para obtener minitubérculos en casa de cultivo o campo.

Si se tiene en cuenta que la respuesta *in vitro* no solo está relacionada con el potencial genético inherente a la variedad; sino también con las condiciones de cultivo (Srivastava *et al.*, 2012) se podría estudiar la influencia de otros factores tales como la composición del medio de cultivo, el tipo de agente gelificante, la iluminación, la temperatura, la adición de reguladores del crecimiento que permitan mejorar la supervivencia de los meristemas de la variedad 'Marinca' e incrementar el número de microtubérculos por planta en todas las variedades. Autores tales como Sharma *et al.* (2011) mejoraron la tasa de multiplicación *in vitro* de trece variedades de papa de la India con diferentes agentes gelificantes y Gudeva *et al.* (2012) mediante la adición de citoquininas y la combinación de citoquininas y auxinas en el medio de cultivo contribuyeron al crecimiento *in vitro* y a una mejor inducción de la tuberización en dos variedades de papa.

La obtención de microtubérculos en medio de cultivo semisólido con la adición a las plantas de medio de cultivo líquido proporciona, además, información valiosa a tener en cuenta para el uso posterior de sistemas de inmersión temporal que se emplean para producir microtubérculos (Jiménez *et al.*, 1999). Se ha considerado que los microtubérculos son un material vegetal ideal para producir semilla de alta calidad con ventajas sobre las plantas *in vitro* relacionadas con su pequeño tamaño, su vigor, requerimientos de poco espacio para su almacenamiento por tiempo prolongado, fácil transportación, y posibilidades de empleo para

la producción de minitubérculos en casa de cultivo o campo en programas de producción de semilla de papa. Además, permiten la conservación e intercambio de germoplasma y estudios de mejoramiento genético (Dobránszki *et al.*, 2008; Castro *et al.*, 2012, Fufa y Diro, 2014).

CONCLUSIONES

Las variedades cubanas 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis' pueden ser propagadas *in vitro* y su respuesta es genotipo dependiente. Las variedades 'Yuya' e 'Ibis' presentan alta supervivencia de sus meristemas, con una mayor frecuencia de plantas de morfología normal y altos coeficientes de multiplicación. Todas las variedades tienen la capacidad de formar microtubérculos de 0.1 a 1.0 cm de diámetro y la variedad 'Marinca' es la que produce mayor número por planta. Estos resultados brindan la información necesaria para establecer los indicadores de calidad y planificación durante el proceso de propagación masiva de estas variedades.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el marco del proyecto Nacional Fortalecimiento de la semilla de papa que se ejecuta entre varios centros de investigación del país.

REFERENCIAS

- Castillo JG, Estévez A, González ME, Salomón JL (2006) Informe de nuevas genotipos 'Grettel', una nueva variedad cubana de papa para el consumo fresco e industrial. Cultivos Tropicales 27: 63
- Castillo JG, Jorge L, Díaz S, Estévez A, Espinosa HM, González AP, Castiello UO, Monguía R, Lorenzo N, Tabera O (2011) Informe de nuevas genotipos 'Yuya', nueva variedad de papa cubana para doble propósito. Cultivos Tropicales 32(2). 45
- Castro J, Agramonte D, Alvarado-Capó Y, de Fera M, Pugh T (2012) Empleo de métodos biotecnológicos en la producción de semilla de papa. Biotecnología Vegetal 12(1): 3-24
- Dobránszki J, Magyar-Tábori K, Ferenczy A (1999) Light and genotype effects on *in vitro* tuberization of potato plantlets. Potato Research 42: 483-488
- Dobránszki Judit, Magyar-Tábori Katali, Hudák Ildikó (2008) *In vitro* tuberization in hormone-free systems

- on solidified medium and dormancy of potato microtubers. En: Benkeblia N, Tennant P (Eds) Potato I. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, pp. 82-94. Global Science Books. London
- Éstevez A, González ME, Castillo J, Ortiz U, Cordero M (1998) Informe de nuevas genotipos 'Lizzette' e 'Ibis' dos nuevos genotipos cubanos de papa. Cultivos Tropicales 19(2): 57
- Fufa M, Diro M (2014) Microtuber induction of two potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. Adv Crop Sci Tech 2: 122
- Gudeva K, Mitrev S, Fidanka T, Mite I (2012) Micropropagation of potato *Solanum tuberosum* L. Electronic Journal of Biolog 8(3): 45-49
- Hazarika B N (2006) Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. Scientia Horticulturae 108: 105-120
- Hossain MJ (2005) *In vitro* microtuberization in potato obtained from diverse sources. Plant Tissue Culture and Biotech 15(2): 157-166
- Jiménez E, Pérez N, De Feria M, Barbón R, Capote A, Chávez M, Quiala E, Pérez J (1999) Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 59: 19-23
- Jiménez-Terry F, Agramonte D, Pérez M, León M, Rodríguez M, de Feria, M, Alvarado-Capó Y (2010) Producción de minitubérculos de papa var. 'Desirée' en casa de cultivo con sustrato zeolita a partir de plantas cultivadas *in vitro*. Biotecnología Vegetal 10(4): 219-228
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-497
- Sharma S, Venkatasalam EP, Patial R, Latawa J, Singh S (2011) Influence of gelling agents and nodes on the growth of potato microplant. Potato J. 38(1): 41-46
- Srivastava AK, Diengdoh LC, Rai R, Bag TK, Shing BP (2012) *In Vitro* Micropropagation and Microtuberization Potential of Selected Potato Varieties. Indian Journal of Hill Farming 25(2): 14-17

Recibido: 11-11-2014
Aceptado: 04-03-2015