

# Eficiencia del Mejoramiento Genético de Papa con Manipulaciones de Ploidía<sup>1</sup>

R. Ortiz\*, S.J. Peloquin \*\*

## ABSTRACT

A diploid population with multiple pest/disease resistances and adaptation to short-day environments (SD) has been developed by CIP. The population was evaluated: a) *per se* under long day environments (LD), and b) as parents by determining their general combining ability (GCA) in both LD and SD environments through 4x x 2x crosses and comparing their GCA estimates with those of tetraploid parents crossed with common tetraploid female testers. Selection for adaptation was effective in the diploid population in developing parents to be used in breeding under LD. GCA estimates for tuber yield indicate that diploid parents with FDR 2n pollen were better than tetraploid parents in SD. Only 4x - 2x progenies combined high yield, yield stability and specific gravity. However, opposite results were found for tuber yield using the same parents under LD. Heterosis for tuber yield was only expressed in progenies in which both parents were selected under LD, indicating that selection for adaptation is very important for the utilization of diploid germplasm. Additional studies were done to: (a) outline an inexpensive production methodology of 4x true potato seed through ploidy manipulations; and (b) determine the inheritance of male sterility (CMS) and 2n pollen in tetraploid potatoes. A limitation in the production of 4x progeny after 2x x 2x crosses is the low frequency of 2n gametes. Improvement in the expressivity of 2n gametes was observed after recurrent selection in the 2x population. The inheritance study about on CMS and production of 2n pollen found that: (a) CMS is the result of the interaction between a sensitive cytoplasm with a dominant male sterility gene Ms; (b) male fertility restoration occurs due to a fertility restorer gene Rt; and (c) 2n pollen production is genetically controlled by the recessive meiotic mutant ps (FDR 2n pollen), its frequency being 0.74 in the tetraploid hybrid population. This knowledge is very important for the production of FDR 2x male fertile haploid-species hybrids through crosses between *Tuberosum* haploids (sensitive cytoplasm) with a genotype Rt/—ps/ps x species with genotype Ms/ms ps/ps.

**Key words:** Haploids, wild species, ploidy manipulations, FDR 2n pollen, SDR 2n eggs, recurrent selection, true potato seed, genetic-cytoplasmic male sterility.

## RESUMEN

Se desarrolló una población diploide con resistencia múltiple a las plagas y adaptación a los días de fotoperíodo corto (DC). Esta población se evaluó: a) en ambientes con días de fotoperíodo largo (DL) y b) como progenitores. Así se determinó su aptitud combinatoria general en cruces 4x x 2x, y se compararon con progenitores tetraploides en cruzamientos con probadores tetraploides femeninos comunes a ambos ambientes. La selección por adaptación fue efectiva en el desarrollo de progenitores diploides para ser utilizados en DL. La ACG para rendimiento indicó que los progenitores diploides con polen 2n RPD fueron mejores que los tetraploides en DC. Las progenies 4x-2x combinaron alto rendimiento, estabilidad de rendimiento sobre ambientes y alta gravedad específica. Sin embargo, se observaron resultados completamente opuestos en rendimiento en DL cuando se evaluaron los mismos progenitores. La heterosis por rendimiento se expresó sólo en progenies cuyos progenitores fueron seleccionados en DL. Esto indicó que la selección por adaptación fue muy importante para un uso adecuado del germoplasma diploide. Estudios adicionales se realizaron en: a) la producción a bajo costo de semilla sexual híbrida tetraploide de papa utilizando manipulaciones de ploidía, y b) la herencia de la esterilidad masculina (MS) y polen 2n en papas tetraploides. La producción de progenie tetraploide a través de cruzamientos 2x x 2x se vio limitada por la baja frecuencia de gametos 2n en los progenitores diploides. La mejora en la expresividad de gametos 2n fue observada después de efectuarse una selección recurrente en la población diploide. El estudio sobre herencia de MS en la producción de polen 2n en papa tetraploide indica que la esterilidad masculina en papa puede explicarse como resultado de la interacción entre citoplasmas sensibles y un gen nuclear dominante Ms. Pero la fertilidad masculina puede ser lograda por la acción de un gen restaurador, Rt; además, el polen 2n en progenies tetraploides está controlado genéticamente por el mutante meiótico recesivo ps. La frecuencia de este gen es 0.74. Este conocimiento es importante si permite la producción de híbridos diploides machos fértiles, con producción de polen 2n RPD al cruzarse haploides de *Tuberosum* (citoplasma sensible) con genótipo Rt/—ps/ps y especies silvestres con genótipo Ms/ms ps/ps.

1 Recibido para publicar el 18 de febrero de 1993. Auspiciado por el College of Agriculture and Life Science, (CIP), United States Department of Agriculture (USDA)-CRGO-88-37234 3619, y por Frito-Lay Inc

\* International Institute of Tropical Agriculture, Plantain & Banana Improvement Program, Oyo Road, PMB 5320, Ibadan, Nigeria.

\*\* Ph D. Campbell-Bascom Professor.

## INTRODUCCION

La mayoría de las especies tubíferas del género *Solanum* son diploides ( $2n = 2x = 24$ ). Estas especies son importantes fuentes de genes que confieren resistencia a pestes y tolerancia a condiciones ambientales extremas. Pueden utilizarse en cruzamientos con haploides ( $2n = 2x = 24$ ) de la papa cultivada tetraploide (Gp. *Tuberosum* o *Andigena*), lo que permite un mejoramiento en el nivel diploide. Ese mejoramiento en este nivel de ploidía tiene la ventaja de la herencia disómica y, por lo tanto, hay mayor probabilidad de combinar los genes de interés en un solo genotipo en el nivel diploide. Los progenitores haploides contribuyen a mejorar las características agronómicas; mientras que las especies diploides poseen los genes de resistencia/tolerancia a los desafíos ambientales o a las pestes e incrementan la diversidad alélica presente en las especies cultivadas tetraploides. Los genes de interés pueden ser transferidos de los progenitores diploides al nivel tetraploide a través del uso de gametos  $2n$  (gametos con el número cromosómico del esporofito).

Este esquema de mejoramiento se conoce como manipulaciones de ploidía (Peloquín *et al.* 1991), y lo han utilizado con éxito los fitomejoradores de la Universidad de Wisconsin-Madison (Peloquín y Ortiz 1992) y del CIP en la transferencia de resistencia a nemátodos (Iwanaga *et al.* 1989) e insectos (Ortiz *et al.* 1990), así como en otras instituciones de América Latina (Camadro y Mendiburu 1988) y Europa (Zimmoch-Guzowska 1986). En el CIP se utilizó el mejoramiento de poblaciones a nivel diploide para combinar genes de resistencia a distintas pestes y con deseables características agronómicas. El robustecimiento de la resistencia a las diferentes pestes se facilitó por las técnicas de tamizado disponibles, tanto en las pruebas de laboratorio como en las de invernadero.

Los genes de resistencia a las pestes (encontrados en las especies diploides cultivadas o silvestres) fueron transferidos del germoplasma diploide al nivel tetraploide a través de la utilización de polen  $2n$ . Esta anomalía meiótica es sobre todo producto de la orientación paralela de los husos durante la anafase II (Mok y Peloquin 1975; Watanabe y Peloquin 1989) y está controlada genéticamente por el mutante meiótico *ps* (Mok y Peloquin 1975) que es esencialmente un mecanismo de restitución de la primera división meiótica (RPD). De esta manera, se puede incorporar aproximadamente un 80% de la heteroci-

gosis de los progenitores diploides en la progenie tetraploide por medio de cruzamientos  $4x \times 2x$ . Eso explica el alto rendimiento (Iwanaga y Ortiz 1988; Ortiz e Iwanaga 1986) de los tetraploides obtenidos con esta metodología. Las especies involucradas en estos clones diploides productores de polen  $2n$  RPD comprenden haploides de los tetraploides cultivados (Gp. *Andigena* y *Tuberosum*), diploides cultivados (Gp. *Stenotomum* y *Phureja*) y silvestres (*S. cha-coense*, *S. microdontum*, *S. sparsipilum* y *S. vernei*). Este germoplasma diploide con producción de polen  $2n$  RPD tiene genes de resistencia a nemátodos del quiste y del nudo, marchitez bacteriana, tizones tardío y temprano, y a los virus X, Y, y del enrollamiento. Un resumen de los resultados de este proyecto se presenta en el Cuadro 1.

Este artículo discute los resultados obtenidos en las siguientes áreas de investigación; la evaluación del germoplasma diploide del CIP, que se desarrolló en ambientes de fotoperíodo corto (12 h o menos) y de fotoperíodo largo (más de 14 h), lo mismo que el uso de estos progenitores diploides en cruzamientos  $4x \times 2x$  en ambos ambientes; el incremento de producción de gametos  $2n$  con selección recurrente en la población diploide; la producción de semilla sexual a través de poliploidización sexual bilateral; el uso de polen  $2n$  RPD para mejorar la eficiencia de la papa; y la esterilidad citoplasmática-genética y producción de polen  $2n$  en papa tetraploide.

## MATERIALES Y METODOS

**Experimento 1: Evaluación del germoplasma diploide en días de fotoperíodo largo**

Materiales seleccionados en días de fotoperíodo corto en el CIP en Perú fueron incluidos en este experimento realizado en Rhineland, Wisconsin. Setenta familias (híbridas y de polinización libre) se evaluaron en bloques completos aleatorios con 40 clones en dos repeticiones de acuerdo con el tipo de planta, la floración, la precocidad y la tuberización.

Individuos seleccionados en días de fotoperíodo largo se usaron como progenitores en cruzamiento con materiales adaptados a esas condiciones. Progenies híbridas se evaluaron en un látice simple  $11 \times 11$  para comparar la aptitud combinatoria general (ACG) en rendimiento de los progenitores diploides en ambientes de fotoperíodo largo.

**Cuadro 1.** Mejoramiento poblacional a nivel diploide y transferencia de la característica a nivel tetraploide con el uso de polen 2n RPD en el CIP (herencia, fuentes de resistencia/tolerancia/atributos).

Característica	Herencia	Fuente	Mejoramiento poblacional	Uso de polen 2n	Progenitor diploide
Inducción de haploide	oligogénica	phu <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	-	A
Marchitez bacteriana	poligénica	phu, spl	A	A	A
Tizón temprano	aditiva	phu, stn	A	A	A
Tizón tardío	aditiva	adg	A	C	A
PVY	gen dominante	sto	A	B	A
PVX	gen dominante	acl, adg	A	B	A
PLRV	poligénica	sto, chc	B	B	B
Nematodos del nudo	aditiva	spl, chc	A	A	A
Nematodo de quiste	aditiva	adg, vrn	B	A	B
polilla	aditiva	spl	A	B <sup>3</sup>	C
Rendimiento	no aditiva		A	A	A
Uniformidad (color y forma)	genes mayores		A	A	A
Materia seca	aditiva	phu	A	B	B

1. Las abreviaciones de las especies son de Huamán y Ross (1985)
2. A = avanzado; B = intermedio; C = inicial
3. Cruzamiento 2x (oosferas 2n) x 4x.

### Experimento 2: Selección recurrente para incrementar la producción de gametos 2n

Un total de 1361 clones provenientes de 129 familias híbridas (haploides de *Tuberosum* x especies silvestres) fueron evaluadas en Rhinelander, Wisconsin (ciclo 0). El ciclo 1 consistió de 23 familias obtenidas de cruzamientos entre clones seleccionados por su producción de oosferas 2n en el ciclo 0. La producción de oosferas 2n en cada ciclo se determinó por la producción de semillas en cruzamientos 2x x 4x (Ortiz y Peloquin 1991). Cada uno de los clones evaluados fue polinizado después de emascular la antera con polen de un progenitor tetraploide.

Parámetros genéticos para la producción de polen 2n RPD en días de fotoperíodo largo se determinaron en la población diploide de CIP, ya descrita, utilizando la metodología propuesta por Ortiz y Peloquin (1991). Esto sirvió para realizar comparaciones entre diversas metodologías de selección con el fin de incrementar la frecuencia de polen 2n RPD en la población diploide.

### Experimento 3: Evaluación de progenitores diploides con polen 2n RPD y tetraploides en ambientes de días largos y cortos en cruzamientos con progenitores tetraploides comunes

Progenies 4x-2x y 4x-4x fueron obtenidas de cruzamientos factoriales (línea x probador) entre 11 clones tetraploides (progenitores femeninos) y 12 progenitores masculinos (4 tetraploides y 8 diploides con polen 2n RPD). Los progenitores constituyeron muestras de las poblaciones de mejoramiento diploide y tetraploide del CIP. Las familias se evaluaron en días de fotoperíodo corto en 4 localidades del Perú (La Molina, Huancayo, Huaraz y San Ramón), en días de fotoperíodo largo en Rhinelander, Wisconsin durante dos años. Bloques completos aleatorios con dos repeticiones de 15 clones se utilizaron en cada localidad. Las características agronómicas estimadas fueron el rendimiento total y comercial (tubérculos  $\geq 50$  g), el tamaño y el número de tubérculos por planta, así como el contenido de materia seca (gravedad específica).

Parámetros genéticos en las poblaciones 4x-2x y 4x-4x se calcularon de acuerdo con Ortiz *et al.* (1991). Esto sirvió para construir un índice de selección simultánea y de hereditabilidad, lo que permitió comparar ambas poblaciones.

Las mismas familias incluidas en esta evaluación fueron utilizadas para estudiar la esterilidad genéticocitoplasmática, el gen restaurador de fertilidad masculina y la producción de polen 2n RDP en la papa tetraploide de acuerdo a la metodología indicada por Iwanaga *et al.* (1991).

**Método innovador de producción de semilla sexual híbrida tetraploide**

El uso de semilla sexual es un método alternativo para la producción de papa en los países en vías de desarrollo (Malagamba y Monares 1988). Una limi-

tación de esta metodología alternativa para la producción de papa es la falta de semilla sexual híbrida que produzca progenie uniforme y de alto rendimiento. Los resultados obtenidos con progenies tetraploides provenientes de cruzamiento 2x x 2x (Werner y Peloquin 1992) fueron muy alentadores; las progenies tetraploides de cruzamientos 2x x 2x tuvieron rendimientos superiores o similares a los cultivares tetraploides. Sin embargo, el número de tubérculos fue excesivo; su forma, inadecuada; y su tamaño, pequeño.

La identificación de híbridos diploides entre haploides de Tuberosum y especies diploides silvestres (HS), con características de tubérculos deseables y producción de gametos 2n, permite la producción, a bajo costo, de semilla sexual híbrida tetraploide derivada del cruzamiento entre progenitores diploides (Fig. 1). La metodología propuesta por Ortiz y Pelo-

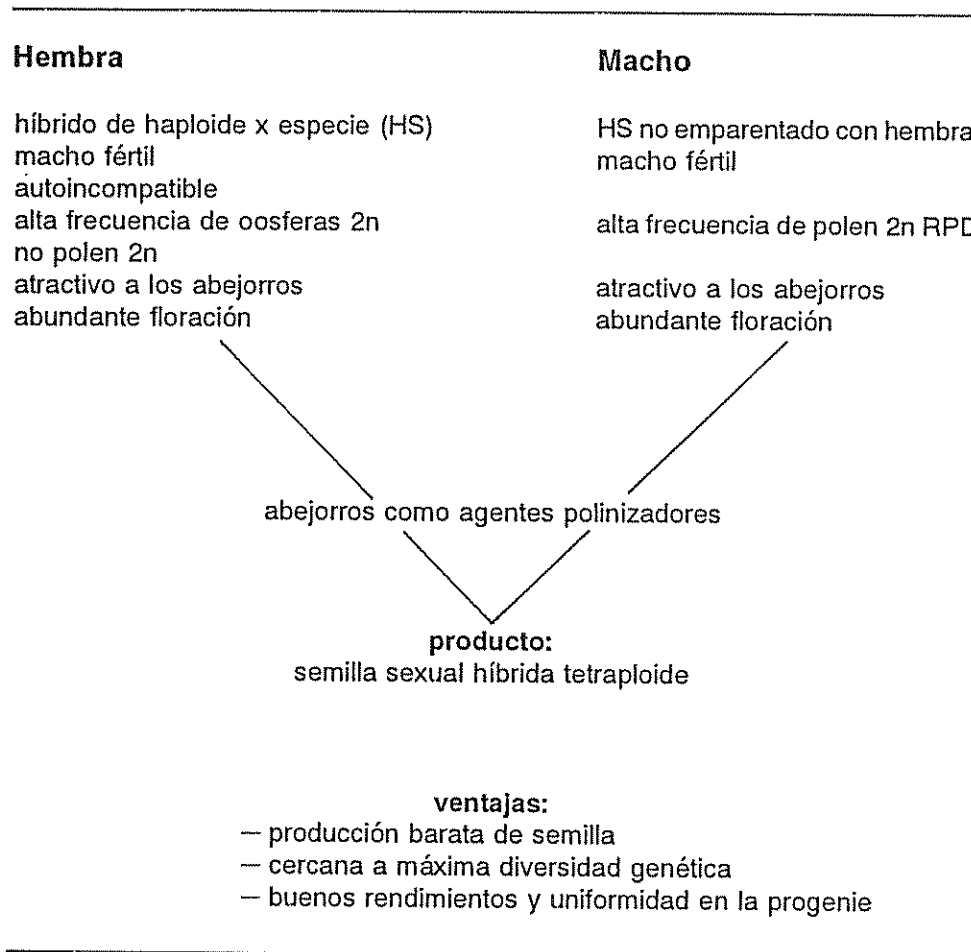


Fig. 1. Producción de semilla sexual con poliploidización sexual bilateral.

quin (1991) consiste en el uso de progenitores diploides que produzcan oosferas o polen  $2n$ . Un híbrido HS (progenitor femenino) es seleccionado por su fertilidad masculina (para atraer al abejorro, polinizador natural en papas), autoincompatibilidad (para evitar la autofecundación a nivel diploide), alta frecuencia de oosferas  $2n$ , y carencia de producción de polen  $2n$ —para evitar la autofecundación y producción de progenie por endocría tetraploide—; otro híbrido HS (progenitor masculino), no emparentado con el progenitor femenino, se selecciona por su alta fertilidad masculina y alta frecuencia de polen  $2n$ . Así mismo, ambos progenitores son seleccionados por su floración, atracción de abejorros y otras características de interés.

Los progenitores masculinos se siembran en surcos alternos, encargándose los abejorros de realizar la recolección del polen y la polinización. Se cosecha solamente la semilla del progenitor femenino. Esta semilla sexual híbrida tetraploide produce plantas con alto rendimiento y uniformidad de tubérculo. La eliminación de la emasculación, la recolección del polen y la polinización manual reducen los costos de producción de semilla sexual híbrida tetraploide en 50% por lo menos.

#### **Eficiencia del mejoramiento de papa con gametos $2n$ RPD**

La comparación de los dos esquemas de mejoramiento,  $4x-4x$  y  $4x-2x$ , utilizando germoplasma del CIP, evaluado en localidades de días cortos (Ortiz *et al.* 1991), indicó que este último fue más eficiente en la selección simultánea para varias características de tubérculo (número ( $X_1$ ), materia seca ( $X_2$ ), tamaño ( $X_3$ ) y rendimiento total ( $X_4$ )). Para ello se utilizó un índice de selección ( $Y$ ), que se expresó como  $Y = 0.47 X_1 + 152.32 X_2 - 89.45 X_3 + 0.30 X_4$ . Las progenies de cruzamiento  $4x \times 2x$  combinaron alto rendimiento, alta gravedad específica y adecuado tamaño y número de tubérculos; mientras que progenies de cruzamiento  $4x-4x$  con alto rendimiento tuvieron muy bajo contenido de materia seca.

Los progenitores diploides con polen  $2n$  RPD fueron mejores que los tetraploides para evaluar la aptitud combinatoria general (ACG) en rendimiento de progenitores tetraploides. Además, un número menor de repeticiones y localidades fue necesario para evaluar el rendimiento de las progenies  $4x-2x$ , que

las usadas para calcular el de las progenies  $4x-4x$  de acuerdo a los estimados de hereditabilidad obtenidos (Ortiz *et al.* 1991).

Los resultados obtenidos pueden explicarse como productos del polen  $2n$  RPD, que transmite 80% de su genotipo diploide intacto a su progenie  $4x$  en cruzamientos  $4x \times 2x$  (Peloquin *et al.* 1991); de la transmisión de un alto porcentaje de la heterocigosis y la epistasia del progenitor diploide, que es importante en el mejoramiento de la papa, ya que las interacciones *intra locus* e *inter loci* son las que contribuyen significativamente a incrementar el rendimiento (Mendiburu y Peloquin 1988; Mendoza y Haynes 1974) y su estabilidad en diferentes ambientes (Amoros y Mendoza 1979; Darro y Peloquin 1990; De Jong *et al.* 1981); por último, del polen  $2n$  RPD de un progenitor diploide, que es más heterocigota, pero más homogéneo que el polen normal  $n$  de un progenitor tetraploide (Mok y Peloquin 1975).

#### **Esterilidad genética-citoplasmática, restaurador de fertilidad masculina y producción de polen $2n$ RPD en la papa tetraploide**

Iwanaga *et al.* (1991) encontraron que la esterilidad masculina fue el resultado de la interacción entre un gen nuclear dominante *Ms* con el citoplasma de *Tuberosum* (predominante en los cultivares de los EE.UU. y Europa). También encontraron que la variación en la esterilidad masculina en las progenies  $4x-2x$  se debió a la presencia o ausencia de un alelo dominante en un gen restaurador de la fertilidad masculina (*Rt*). Los *loci* de los genes *Ms* y *Rt* se encuentran ubicados muy lejos del centrómero y, de este modo, ambos tienen segregación de cromátidas. Resultados posteriores (Ortiz *et al.* 1993) indican que los citoplasmas de Andígena—la papa tetraploide cultivada en Los Andes— y *S. demissum*—muy común en las variedades mejicanas— no son sensibles y, por lo tanto, no interaccionan con el gen *Ms*. Sin embargo, el citoplasma de *S. stoloniferum* (presente en variedades alemanas o argentinas como “Serrana”) interacciona con el gen *Ms* y transmite a sus progenies un tipo especial de esterilidad masculina, conocida como esterilidad de tetradas (Brown 1984). La fertilidad masculina fue restaurada en la progenie con progenitores macho-estéril, con citoplasma de *Tuberosum*, por la acción del gen *Rt* presente solamente en *Tuberosum*. La frecuencia de este alelo *Rt* fue estimada en 0.20 en *Tuberosum* (Iwanaga *et al.* 1991).

**Cuadro 2.** Estimación de la frecuencia del alelo *ps* y número de individuos sin polen 2n (n), con polen 2n en una hipotética población híbrida entre *Tuberosum* x *Andígena* con segregación de cromosomas para el *locus ps*.

Tuberosum I = 0.7 <sup>2</sup>	Andígena: Frecuencia de alelo <i>ps</i> . = 0.8 (q)				
	PsPsPsP p <sup>4</sup>	PsPsPsp 4p3q	PsPspsp 6p2q2	Pspspsp 4pq3	pspspsps q <sup>4</sup>
PsPsPsP p <sup>4</sup>	todos n	todos n	todos n	todos n	todos n
PsPsPsP 4p3q	todos n	todos n	todos n	todos n	todos n
PsPspsp 6p2q2	todos n	todos n	0 041 35 n: 1 2n	0 108 11 n: 1 2n	0 108 5 n: 1 2n
Pspspsp 4pq3	todos n	todos n	0 063 11 n: 1 2n	0 169 3 n: 1 2n	0 169 1 n: 2 2n
pspspsps q <sup>4</sup>	todos n	todos n	0 037 5 n: 1 2n	0 098 1 n: 1 2n	0 098 todos 2n

**Nota:** Los individuos pspspsps (q<sup>4</sup>) = 0.098 + 0.098/2 + 0.037/6 + 0.169/4 + 0.063/12 + 0.108/6 + 0.108/2 + 0.108/12 + 0.041/36 = 0.313  
Entonces q = 0.74.

1. estimado por Watanabe y Peloquin (1989)
2. estimado por Iwanaga y Peloquin (1982)

La frecuencia del gen *ps*, que condiciona la producción de polen 2n RPD, fue estimada en 0.74 en la población tetraploide del CIP (Ortiz *et al.* 1993). El *locus ps* se encuentra ubicado cerca del centrómero, ya que la estimación del coeficiente de doble reducción, *alpha*, fue igual a cero. Más aún, la frecuencia del gen *ps*, asumiendo segregación de cromosomas para una hipotética población híbrida entre *Andígena* x *Tuberosum*, es también 0.74.

El conocimiento de la genética de la esterilidad masculina y la producción de polen 2n RPD ofrece la

oportunidad de desarrollar híbridos, utilizando cruza- mientos entre haploides de *Tuberosum* y especies diploides. Los híbridos diploides tendrán fertilidad masculina y producción de polen 2n RPD (Fig. 2). Los haploides de cultivares tetraploides de *Tuberosum*, que posean los genes *Rt* y *ps* deberían utilizarse en cruzamientos con especies cultivadas o silvestres, que produzcan polen 2n RPD y que sean portadores del gen *Ms*, el cual interactúa con el cito- plasma de *Tuberosum*. De esta manera, los híbridos diploides HS tendrán fertilidad masculina y produc- ción de polen 2n RPD. Ellos podrán utilizarse en la

**Cuadro 3.** Plantas con fertilidad (MF) y esterilidad masculina (MS); sin (n) y con polen 2n en híbridos (haploides y especies sil- vestres) agrupadas de acuerdo a su progenitor haploide.

Progenitor haploide (%)	MF/MS	Huancayo <sup>1</sup>			Rhineland <sup>2</sup>			
		MF	n/2n (%)	2n	MF/MS	MF (%)	n/2n	2n
W 730 (Rt/rt Ps/ps)	75/10	88	44/31	41	267/55	83	212/5	21
W 973 (rt/rt Ps/ps)	12/6	67	8/2	20	79/25	76	54/25	32
W 1887 (rt/rt Ps/ps)	31/39	44	15/16	52	36/10	78	26/10	28
W 4139 (Rt/rt Ps/ps)	20/2	91	15/5	25	39/4	91	35/4	10

- 1 Ortiz e Iwanaga (1988) datos no publicados.
- 2 Yerk (1987).

introgresión del germoplasma diploide en el nivel tetraploide vía cruzamientos  $4x \times 2x$ .

Esta propuesta se basa en resultados preliminares que se presentan en el Cuadro 3. Los haploides, extraídos del tetraploide W-231 simplex para los loci **Rt** y **ps** y nulliplex para **Ms**, fueron utilizados en cruzamientos con seis diferentes especies silvestres (*S. bukasovii*, *S. canasense*, *S. gourlayi*, *S. multidissectum*, *S. verrucosum* y *S. vernei*); algunas de ellas son portadoras del gen **Ms** y con polen  $2n$  RPD (**ps/ps**). Dos haploides (US W-730 y US W-4139) de W-231 fueron identificados como portadores del gen **Rt** y más del 75% de sus progenies tuvieron fertilidad masculina. Todos los haploides de W-231, utilizados en este experimento fueron heterocigotas para el locus **ps**, y, por lo tanto, su progenie segregó en la producción de polen  $2n$  RPD.

### Mejoramiento poblacional a nivel diploide y producción de progenie tetraploide a través de poliploidización sexual

El mejoramiento poblacional a nivel diploide con haploides y especies silvestres es necesario para perfeccionar características agronómicas, combinar resistencia a plagas y tolerancia a ambientes extremos. Individuos diploides, con alta frecuencia de gametos  $2n$  y características de interés, podrían producirse a través de una selección recurrente y usarse en la producción de progenies tetraploides por medio de la poliploidización sexual bilateral. Un ejemplo hipotético ilustra esta propuesta (Fig. 3).

Los haploides se extraen de cultivares con resistencia a virus: "Pirola" (de Europa), con inmunidad a PVY, y "Atlantic" (de EE.UU.), con inmunidad a

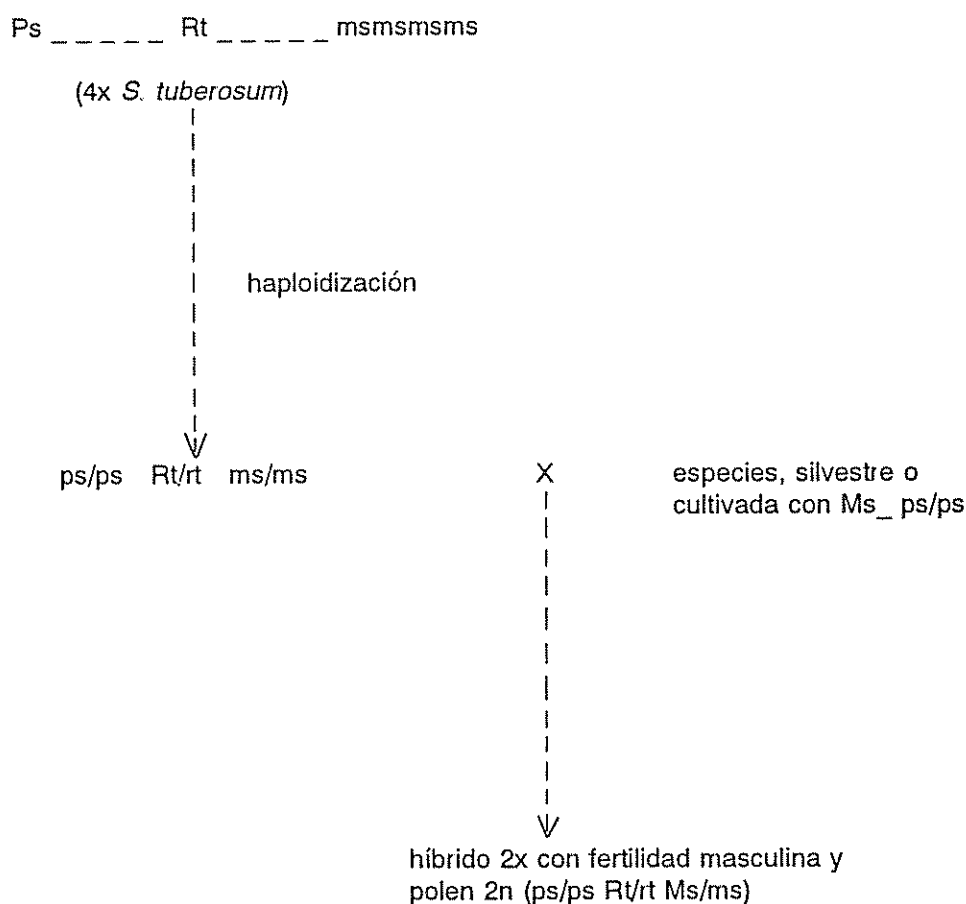
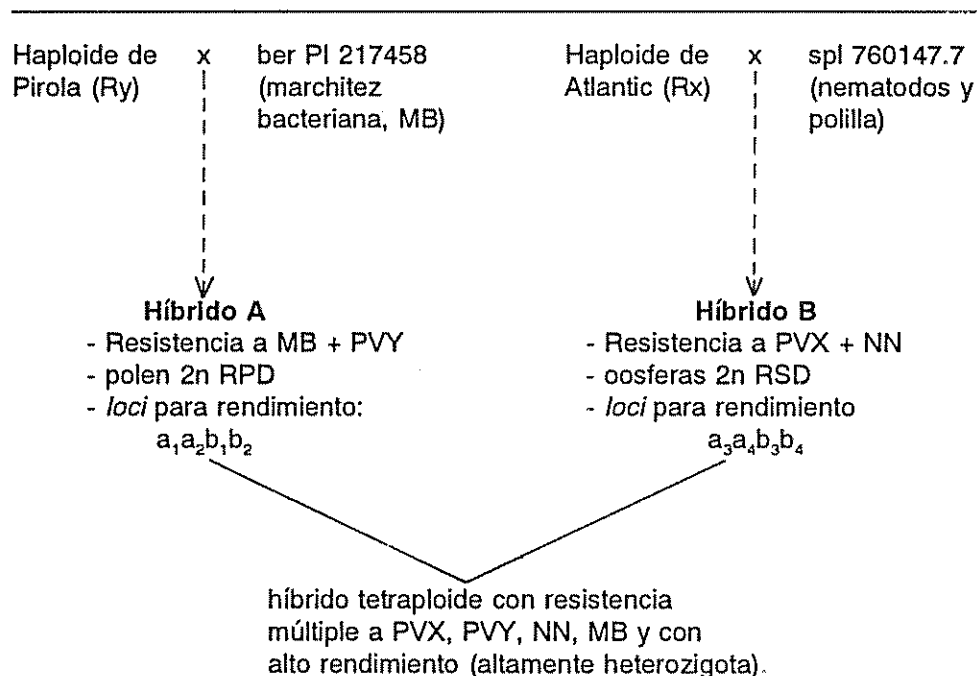


Fig. 2. Extracción de haploides de cultivares tetraploides Tuberosum portadores del gen restaurador de fertilidad masculina (**Rt**) y producción de híbridos con especies silvestres con fertilidad masculina y polen  $2n$  RPD.



**Nota:** Locus "a" cerca al centrómero (antes del primer entrecruzamiento) y locus "b" lejano del centrómero (después del primer entrecruzamiento).

Fig. 3. Esquema para obtener híbridos 4x heterocigotas y con resistencia múltiple de cruzamientos entre progenitores diploides con gametos 2n (RSD x RPD).

PVX. Después del tamizado respectivo, los haploides inmunes a cada uno de los virus se aprovechan en cruzamientos con especies silvestres diploides, que tienen características específicas. Por ejemplo, la colección PI 217458 (*S. berthaultii*), con resistencia a la marchitez bacteriana, o el clon CIP 760147.7 (*S. sparsipilum*), con resistencia a los nematodos del nudo y del quiste y a la polilla de la papa, podrían ser las especies diploides por utilizar como potenciales progenitores. Los híbridos -resultado del cruzamiento entre los haploides y las especies diploides silvestres- serán tamizados de acuerdo con las resistencias encontradas en sus respectivos progenitores y por la producción de polen 2n RPD y oosferas 2n RSD. De este modo, individuos que combinen al menos dos resistencias y producción de gametos 2n en cada población, podrían usarse como progenitores en cruzamientos para obtener híbridos tetraploides de alto rendimiento y múltiple resistencia.

Todos los individuos resultantes de tales cruzamientos ( $a_1a_2a_3a_4$ ) serán trialélicos para los loci cercanos al centrómero y, 50% de ellos, tetralélicos ( $b_1b_2b_3b_4$ ) para los loci localizados después del primer entrecruzamiento. Por lo tanto, el alto rendimiento debe esperarse debido a la máxima heterocigosis en la resultante progenie tetraploide (Cuadro 4).

#### Comparación de métodos convencionales y poliploidización sexual en el mejoramiento para resistencia múltiple a virus y otras pestes

Mackay (1987) propuso un esquema de producción de progenitores tetraploides cuadruplexos o triplexos que combinan inmunidad simultánea a los virus X y Y. Esta metodología consiste en el mejoramiento selectivo combinado con pruebas de progenies de los clones resistentes, utilizando clones susceptibles (nuliplexos:  $r_yr_yr_yr_y$   $r_xr_xr_xr_x$ ) como



**Cuadro 4.** Transmisión de heterocigosis de progenitores diploides ( $a_1a_2$ ,  $b_1b_2$ ;  $a_3a_4$ ,  $b_3b_4$ ) en gametos  $2n$ . a) *Locus* cercano al centrómero (antes del primer entrecruzamiento) y b) *locus* lejano del centrómero (después del primer entrecruzamiento).

Polen $2n$ RPD <i>Locus a</i>	Oosfera $2n$ RSD		
	<i>Locus b</i>	<i>Locus a</i>	<i>Locus b</i>
100% $a_1a_2$	25% $b_1b_1$ 50% $b_1b_2$ 25% $b_2b_2$	50% $a_3a_3$ 50% $a_4a_4$	100 $b_3b_4$

Individuos tetraploides de cruzamientos $2x$ (oosferas $2n$ ) x $2x$ (polen $2n$ )		
Genótipo		Frecuencia teórica (%)
$a_1a_2a_3a_4$	$b_1b_1b_3b_4$	12.5
	$b_1b_2b_3b_4$	25.0
	$b_2b_2b_3b_4$	12.5
$a_1a_2a_4a_4$	$b_1b_1b_3b_4$	12.4
	$b_1b_2b_3b_4$	25.0
	$b_2b_2b_3b_4$	12.5

probadores. De este modo, los clones simplexos ( $R_xr_xr_xr_x$ ,  $R_yr_yr_yr_y$ ) se entrecruzan y los clones duplexos ( $R_xR_xr_xr_x$ ,  $R_yR_yr_yr_y$ ) de tales cruzamientos pueden identificarse por la prueba de progenie. Los clones duplexos se entrecruzan nuevamente o se autofecundan y los clones triplexos ( $R_xR_xR_xr_x$ ,  $R_yR_yR_yr_y$ ) o cuadruplexos ( $R_xR_xR_xR_x$ ,  $R_yR_yR_yR_y$ ), para los genes de inmunidad, se identifican de acuerdo a la prueba de progenie.

Fitomejoradores del CIP (1988) propusieron otro método que consiste en manipular niveles de ploidía de acuerdo con lo propuesto por Chase (1963) en su esquema de mejoramiento analítico. Los haploides se extraen de progenitores tetraploides, seleccionados por ser inmunes simultáneamente a PVX y a PVY, y se tamizan por resistencia a ambos virus. Aquellos haploides identificados como inmunes a ambos virus ( $R_xr_x$ ,  $R_yr_y$ ) duplican su número de cromosomas con colchicina (Ross *et al.* 1967) o por medio del cultivo de tejidos (Hermsem *et al.* 1981; Sennino *et al.*

1988) para producir clones tetraploides que serán duplexos en los *loci* con inmunidad controlada para ambos virus. Sin embargo, estos dihaploides (tetraploides obtenidos del doblamiento somático de haploides) no pueden ser utilizados como variedades comerciales, debido al alto nivel de endocria,  $F = 0.333$ , generado durante el proceso de doblamiento del número cromosómico. Ellos deben utilizarse como progenitores en cruzamientos con material no relacionado y altamente heterocigoto. De ese modo, el coeficiente de endocria disminuirá a  $F = 0.055$ , que no tiene mayor influencia en el rendimiento de los híbridos (Ortiz *et al.* 1986).

El uso del análisis de medias tetradas AMT (Mendiburu y Peloquin 1979) permite la estimación de distancias entre el centrómero y el *locus* en cuestión. Por ejemplo la localización del *locus* para el gen de resistencia a *Globodera rostochiensis* ( $H_1$ ) se realizó utilizando AMT (Jaarveslag 1986). El cruzamiento  $H_1h_1 \times h_1h_1h_1h_1$  produjo 35.3% de progenie con genótipo nuliplejo ( $h_1h_1h_1h_1$ ) de un total de 153 individuos tetraploides. La distancia gen-centrómero para el *locus*  $H_1$  fue estimada como 14.7 cM (con un intervalo de confianza de 95% de 6.8 - 22.6) basado en la producción de oosferas  $2n$  RSD en el progenitor diploide. En forma similar se han localizado los *loci* de los genes de inmunidad para PVY ( $R_y$ ) y PVX ( $R_x$ ) (Jaarveslag 1987, 1988). Las distancias entre el centrómero y el *locus* de  $R_x$  fueron estimadas entre 30 cM y 39.5 cM, y para  $R_y$  aproximadamente en 14.2 cM. De esta manera, la utilización de oosferas  $2n$  RSD, en una población inmune a PVX, y de polen  $2n$  RPD, en una población inmune a PVY, ofrece la posibilidad de producir híbridos tetraploides con inmunidad a ambos virus a través de cruzamientos  $2x \times 2x$  (Cuadro 5). En este sentido, la poliploidización sexual bilateral tiene la ventaja de producir una alta frecuencia no sólo de individuos inmunes a ambos virus, sino también con buen rendimiento.

La poliploidización sexual bilateral puede aprovecharse para combinar en individuos tetraploides resistencias con herencia poligénica como, por ejemplo, aquella contra el nematodo del nudo, *Meloidogyne incognita* (NN), y la inmunidad a los virus X y Y. Iwanaga *et al.* (1989) encontraron que los progenitores diploides resistentes al nematodo del nudo y con polen  $2n$  RPD confieren resistencia al 25% aproximadamente de su progenie en cruzamientos

Cuadro 5. Transmisión de resistencia múltiple utilizando gametos 2n.

a) Resistencia a PVY y PVX.

Gen Ry a 15 cM del centrómero (segregación de cromosomas)

Gen Rx a 35 cM del centrómero (segregación de cromátidas)

Resistencia	Cruzamientos			
	$R_x r_x \times R_y r_y$ (%)	$R_x r_x r_x r_x \times R_y r_y r_y r_y$ (%)	$R_x r_x r_x r_x R_y r_y r_y r_y$ selfed (%)	$R_x R_x r_x r_x \times R_y R_y r_y r_y$ (%)
PVX + PVY	76.3	23.2	60.6	65.5
PVY	16.2	26.8	14.4	17.8
PVX	6.2	23.2	17.8	13.1
Susceptible	1.3	26.8	7.2	3.6

b) Resistencia al nemátodo del nudo (NN) y PVX ó PVY en progenie 4x de cruzamientos 2x x 2x (progenitor femenino inmune a virus y progenitor masculino inmune a NN)

b 1) PVY + NN

b 2) PVX + NN

PVY/NN	25% R	75% S	PVX/NN	25% R	75% S
65% $R_y$	16.25%	48.75%	82.5% $R_x$	20.62%	61.88%
	PVY + NN	PVY		PVX + NN	PVX
35% $r_y r_y$	8.75%	26.25%	17.5% $r_x r_x$	4.38%	13.12%
	NN	Susceptible		NN	Susceptible

c) Resistencia triple en progenies 4x de cruzamiento 2x x 2x

Hembra con oosferas 2n RSD	Macho con polen 2n RPD	
	65% $R_y$	35% $r_y r_y$
75% R-NN * 82.5% $R_x$	40% PVX + PVY + NN	22% PVY + NN
75% R-NN * 17.5% $r_x r_x$	9% NN + PVY	4% NN
25% S-NN * 82.5% $R_x$	13% PVX + PVY	7% PVX
25% S-NN * 17.5% $r_x r_x$	3% PVY	2% Susceptible

con progenitores femeninos tetraploides susceptibles. Aproximadamente 16.25% y 20.62% de la progenie tetraploide, provenientes de poliploidización sexual (Cuadro 5b), serán resistentes a PVY + NN y PVX + NN respectivamente. Más aún, Gómez *et al.* (1983) encontraron que los clones resistentes diploides [*S. sparsipilum* x [Phureja x haploide de Tuberosum]] tenían hasta un 60% de progenie invulnerable a tres especies de *Meloidogyne* en cruzamientos con progenitores masculinos tetraploides susceptibles, después de haber tamizado la progenie tetraploide contra la marchitez bacteriana. Por lo tanto, el uso de progenitores diploides con resistencia combinada a NN + PVX y alta frecuencia de oosferas 2n RSD, en cruzamientos con progenitores diploides, inmunes al PVY y con alta frecuencia de polen 2n RPD, producirá

aproximadamente 40% de híbridos tetraploides con resistencia a PVY + PVX + NN.

**Comparación de poliploidización sexual versus métodos no convencionales (cultivo de anteras y fusión de protoplastos) en el mejoramiento de papa**

Barterls *et al.* (1988) han propuesto que el cultivo de tejidos debe integrarse como una práctica rutinaria en el mejoramiento genético de la papa en varias de sus etapas, para modificar el nivel de ploidía por medio de la extracción de haploides, con el cultivo de anteras y la duplicación del número de cromosomas, para seleccionar células resistentes a bacterias y hongos en diferentes medios, para utilizar el germo-

plasma silvestre a través de la fusión de protoplastos entre especies sexualmente incompatibles y para generar variantes útiles por medio de variación somaclonal.

Sin embargo, se conocen varias limitaciones en la aplicación del cultivo de anteras en papas. Existe una gran variabilidad genética para la regeneración de plantas haploides con el cultivo de anteras (Wenzel *et al.* 1980). Por ejemplo, hay genótipos que carecen de capacidad de regeneración a través de ese procedimiento (Sonnino *et al.* 1989). Es, por ello, que el cultivo *in vitro* no se ha usado con mucho éxito para reducir el nivel de ploidía en los distintos programas de mejoramiento de papas. En este sentido, el uso de inductores de haploidía, como los clones derivados de Phureja 1.22 (University of Wisconsin-Madison) o IvP - 35 (Wageningen) en cruzamientos  $4x \times 2x$ , son más eficientes en la producción de altas frecuencias de haploides, por medio del desarrollo partenogenético de las oosferas de los cultivos tetraploides de *Gp. andigenum* o *Tuberosum* (Peloquin *et al.* 1991).

Por otra parte, el descubrimiento del número de balance endospermico (abreviado EBN, en inglés) por Jonhston *et al.* (1980), en combinación con la utilización de gametos  $2n$  y haploides permitió la utilización de varias de las especies tuberíferas y no tuberíferas, que habían sido consideradas sexualmente incompatibles con las especies cultivadas en el germoplasma de *Solanum* (Peloquin *et al.* 1989). Técnicas diversas, que involucran la manipulación de ploidía y/o la utilización de especies "puente", han sido exitosas en la transferencia de germoplasma de especies con distinto EBN (Chávez *et al.* 1988a, 1988b; Ehlenfeldt y Hanneman 1984, 1988; Jonhston y Hanneman 1980). Iwanaga *et al.* (1991) describieron recientemente una técnica muy eficiente, que involucra el uso de doble polinización en combinación con el rescate de embriones para producir tetraploides entre *S. acaule* (2 EBN)  $\times$  *Andigena/Tuberosum* (4 EBN).

Es importante señalar que la fusión de protoplastos producirá individuos con alta heterocigosis si ambos progenitores no están relacionados. La transmi-

**Cuadro 6. Comparación de poliploidización sexual bilateral versus la utilización de cultivo de anteras y fusión de protoplastos en la utilización de manipulaciones de ploidía en el método analítico sintético en el mejoramiento de papa.**

Etapa	Poliploidización sexual	Cultivo de anteras y fusión de protoplastos
1	Extracción de haploides de $4x$ por partenogénesis	
2	Selección por resistencia específica a nivel $2x$	
3	Cruzamientos con especies silvestres para producir HS	Extracción de monoploides por cultivo de antera
4	Selección por resistencia específica y gametos $2n$ a nivel $2x$	Selección por resistencia al nivel $x$
5	Cruzamiento de progenitores RSD $\times$ RPD con resistencia para producir progenie $4x$	Doblamiento de cromosomas a través de colchicina o cultivo de tejidos
6	Selección de $4x$ de alto rendimiento y con resistencia	
7		Fusión de protoplastos de progenitores híbridos $2x$ para combinar resistencia en $4x$
8		Selección de $4x$ con alto rendimiento y resistencia

sión de la heterocigosis será casi perfecta y las resistencias y/o atributos específicos de los progenitores diploides se podrán combinar en la progenie 4x. No obstante, el mayor problema relacionado con esta técnica reside en que se requieren varios eventos únicos de fusión de protoplastos para evaluar y seleccionar una adecuada combinación (Camadro y Mendiburu 1988). Actualmente, eso es casi imposible, ya que las técnicas para obtener productos por medio de la fusión de protoplastos se aplican a pocos genótipos. Contrariamente, el aprovechamiento de poliploidización sexual bilateral no presenta limitaciones. De esa manera, varios miles de individuos pueden producirse con distintos niveles de heterocigosis y variabilidad genética, dependiendo del modo de formación de gametos 2n y la ocurrencia del entrecruzamiento en cada brazo del cromosoma; así se pueden seleccionar fácilmente los individuos

La comparación entre el esquema de mejoramiento analítico con manipulaciones de ploidía por medio de la poliploidización sexual *versus* el método analítico-sintético, propuesto por Wenzel *et al.* (1980), utilizando cultivo de anteras y fusión de protoplastos (Cuadro 6), demuestra claramente que el uso de la polinización sexual bilateral requiere menos tiempo y recursos que la propuesta de Wenzel *et al.* (1980). De esta manera, la poliploidización sexual bilateral presenta al fitomejorador más ventajas en la producción de variedades híbridas tetraploides de papa con altos rendimientos y resistencia múltiple.

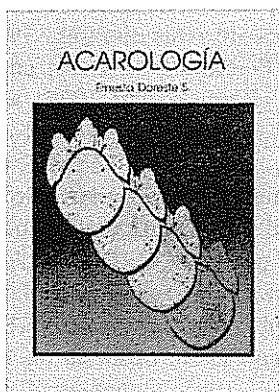
#### LITERATURA CITADA

- AMOROS, W A ; MENDOZA, H A. 1979 Relationships between heterozygosity and yield in autotetraploid potatoes: Abstract American Potato Journal (EE UU.) 45:455
- BARTERLS, D.; GENHARDT, C.; KNAPP, S.; ROHDE, W.; THOMPSON, R.; UHRIG, h.; SALAMANI, F. 1988 Combining conventional plant breeding procedures with molecular-based approaches. *Genome* 31: 1014-1026.
- BROWN, C.R. 1984 Tetrad sterility: A cytoplasmic-genetic male sterility attractive to bumblebees. *EAPR Abstracts of Conference Papers*. p 101-102
- CAMADRO, E.L.; MENDIBURU, A.O. 1988 Utilización del germoplasma en el mejoramiento de papa. *Revista Latinoamericana de la Papa* 1:35-43
- CHASE, S.S. 1963 Analytical breeding in *Solanum tuberosum* L.: A scheme utilizing parthenotes and other diploid stocks. *Canadian Journal Genetics and Cytology* 5:359-363
- CHAVEZ, R.; BROWN, C.R.; IWANAGA, M. 1988a. Application of interspecific sesquiploidy to introgression of PLRV resistance from non-tuber-bearing *Solanum tuberosum* to cultivated potato germplasm. *Theoretical and Applied Genetics (Alemania)* 61:497-500
- CHAVEZ, R.; BROWN, C.R.; IWANAGA, M. 1988b. Transfer of resistance to PLRV titer buildup from *Solanum tuberosum* to a tuber-bearing *Solanum* gene pool. *Theoretical Applied Genetics (Alemania)* 76:129-135
- DARMO, E.; PELOQUIN, S.J. 1990. Performance and stability of nine 4x potato clones from 4x-2x crosses compared with that of four commercial cultivars. *Potato Research* 33:357-364
- DE JONG, H.; TAI, G.C.C.; RUSSEL, W.A.; PROUDFOOT, K.G. 1981. Yield potential and genotype-environment interactions of tetraploid-diploid (4x-2x) potato hybrids. *American Potato Journal (EE UU.)* 58:191-199
- EHLENFELDT, M.K.; HANNEMAN, R.E. Jr. 1984. The use of endosperm balance number and 2n gametes to transfer exotic germplasm in potato. *Theoretical Applied Genetics (Alemania)* 68:155-161
- EHLENFELDT, M.K.; HANNEMAN, R.E. 1988. The transfer of the synaptic gene (*sy-2*) from 1 EBN *S. commersonii* Dun to 2 EBN germplasm. *Euphytica (Holanda)* 37:181-187
- GOMEZ, P.L.; PLAISTED, R.L.; THURSTON, H.D. 1983. Combining resistance to *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* and *Pseudomonas solanacearum* in potatoes. *American Potato Journal (EE UU.)* 60:353-360.
- HERMSEM, J.G.; RAMANNA, M.S.; ROEST, S.; BOKELMANN, A. 1981. Chromosome doubling through adventitious shoot formation of *in vitro* cultivated leaf explants from diploid interspecific potato hybrids. *Euphytica (Holanda)* 30:239-246.
- HUAMAN, Z.; ROSS, R.W. 1985. Updated listing of potato species names, abbreviations and taxonomic status. *American Potato Journal (EE UU.)* 62:629-641.
- IPC (INTERNATIONAL POTATO CENTER). 1988. Annual Report CIP Lima. Perú. 210 p
- IWANAGA, M.; PELOQUIN, S.J. 1982. Origin and evolution of cultivated 4x potatoes via 2n gametes. *Theoretical and Applied Genetics (Alemania)* 78:329-336

- IWANAGA, M.; ORTIZ, R. 1988. Comparison of the parental value of FDR 2x abd if 4x progenitors in two locations. *American Potato Journal* (EE.UU.) 65:491.
- IWANAGA, M.; JATALA, P.; ORTIZ, R.; GUEVARA, E. 1989. Use of FDR 2n pollen to transfer resistance to root-knot nematodes into cultivated 4x potatoes: Abstract. *Journal of the American Society of Horticultural Science* (EE.UU.) 114:1008-1013.
- IWANAGA, M.; ORTIZ, R.; CIPAR, M.S.; PELOQUIN, S.J. 1991. A restorer gene for genetic cytoplasmic male sterility in cultivated potatoes. *American Potato Journal* (EE.UU.) 68:19-28.
- IWANAGA, M.; FREYRE, R.; WATANABE, K. 1991. Breaking the crossability barriers between disomic tetraploid *S. acule* and tetrasomic tetraploid *S. tuberosum*. *Euphytica* (Holanda) 52:183-191.
- JAARVERSLAG. 1986. Annual Report. The Netherlands, Foundation for Agricultural Plant Breeding. p. 95.
- JAARVERSLAG. 1987. Annual Report. The Netherlands, Foundation for Agricultural Plant Breeding. p. 122.
- JAARVERSLAG. 1988. Annual Report. The Netherlands, Foundation for Agricultural Plant Breeding. p. 122.
- JOHNSTON, S.H.; HANNEMAN, R.E. 1980. Support of the endosperm balance number hypothesis utilizing some tuber bearing *Solanum* species. *American Potato Journal* (EE.UU.) 57:7-14.
- JOHNSTON, S.H.; DEN NIJS, I.P.M.; PELOQUIN, S.J.; HANNEMAN, R.E. JR. 1980. The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. *Theoretical Applied Genetics* (Alemania) 57:5-9.
- MACKAY, G.R. 1987. Screening for resistance to diseases and pests. In *The production of new potato varieties: Technological advances*. G.J. Jellis, D.E. Richardson (Eds). Cambridge, Cambridge University Press. p. 88-90.
- MALAGAMBA, P.; MONARES, A. 1988. True potato seed: Past and present uses. *International Potato Center* Lima, Perú. 40 p.
- MENDIBURU, A.O.; PELOQUIN, S.J. 1977. The significance of 2n gametes in potato breeding. *Theoretical and Applied Genetics* (Alemania) 49:53-61.
- MENDIBURU, A.O.; PELOQUIN, S.J. 1979. Gene-centromere mapping by 4x X 2x matings in potato. *Theoretical and Applied Genetics* (Alemania) 45:21-25.
- MENDOZA, H.A.; HAYNES, F.L. 1974. Genetic basis of heterosis for yield in the autotetraploid potato. *Theoretical and Applied Genetics* (Alemania) 49:53-61.
- MOK, D.W.S.; PELOQUIN, S.J. 1975. Breeding value of 2n pollen (diplandroids) in 4x X 2x crosses in potatoes. *Theoretical and Applied Genetics* (Alemania) 46:307-314.
- MOK, D.W.S.; PELOQUIN, S.J. 1975. The inheritance of diplandroid (2n pollen) formation in diploid potatoes. *Heredity* 35:295-302.
- MOK, D.W.S.; PELOQUIN, S.J. 1975. Three mechanisms of 2n pollen formation in diploid potatoes. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 17:217-225.
- ORTIZ, R.; IWANAGA, M.; HENOSTROZA, A.; CHUJOY, E. 1986. Comparación de progenitores diploides con polen 2n RPD, progenitores tetraploides obtenidos a través de doblamiento con colchicina y tetraploides testigo en papa. In *Congreso Peruano de Genética* (1). Abstract. p. 16.
- ORTIZ, R.; IWANAGA, M. 1986. Manipulaciones de ploidía en papa: Evaluación de características agronómicas en progenies 4x-2x. In *Congreso Peruano de Genética* (1). Abstract. p. 15.
- ORTIZ, R.; IWANAGA, M.; RAMAN, K.V.; PALACIOS, M. 1990. Breeding for resistance to potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), on diploid potatoes. *Euphytica* (Holanda) 50:119-126.
- ORTIZ, R.; PELOQUIN, S.J. 1991. A new method of producing inexpensive 4x hybrid true potato seed. *Euphytica* (Holanda) 57:103-108.
- ORTIZ, R.; PELOQUIN, S.J. 1991. Breeding for 2n egg production in haploid x species 2x potato hybrids. *American Potato Journal* (EE.UU.) 68:691-703.
- ORTIZ, R.; FREYRE, R.; IWANAGA, M.; PELOQUIN, S.J. 1991. Efficiency of 4x X 2x breeding scheme in potato for multitrait selection and progeny testing. *Theoretical and Applied Genetics* (Alemania) 82:602-608.
- ORTIZ, R. 1991. Efficiency of potato breeding using 2n gametes: Male sterility and 2n pollen in 4x potato. Tesis Ph.D., University of Wisconsin, Madison. 291 p.
- ORTIZ, R.; PELOQUIN, S.J. 1991. Recurrent selection for FDR 2n pollen and SDR 2n eggs in potato. *Journal of Breeding and Genetics* 46:383-390.
- ORTIZ, R.; FREYRE, R.; IWANAGA, M.; PELOQUIN, S.J. 1991. Response to day length and yield stability of 4x x 4x and 4x x 2x hybrids in potato: Abstract. *American Potato Journal* (EE.UU.) 68:626.
- ORTIZ, R.; PELOQUIN, S.J. 1991. Utilization of exotic germplasm in potato through 2x x 2x crosses. In *Symposium on Plant Breeding in the 1990's: Abstracts*. North Carolina State University, Raleigh, Dept. of Crop Science Research. Report no. 130. p. 81.

- ORTIZ, R.; IWANAGA, M.; PELOQUIN, S.J. 1993. Male sterility and  $2n$  pollen in  $4x$  progenies derived from  $4x \times 2x$  and  $4x \times 4x$  crosses in potatoes. *Potato Research*. (En prensa).
- PELOQUIN, S.J.; JANSKY, S.H.; YERK, G.L. 1989. Potato cytogenetics and germplasm utilization. *American Potato Journal* 66:629-638.
- PELOQUIN, S.J.; WERNER, J.E.; YERK, G.L. 1991. The use of potato haploids in genetics and breeding. In *Chromosome engineering in plants. Part B*. P.K. Gupta, T. Tsuchiya (Eds). Essex, England, Elsevier. p. 79-92.
- PELOQUIN, S.J.; ORTIZ, R. 1992. Techniques for introgressing unadapted germplasm to breeding populations. In *Plant breeding in the 1990's*. H.T. Stalker (Ed). CAB International. p. 485-507.
- ROSS, T. W.; DIONNE, L. A.; HOUGAS, R.W. 1967. Doubling chromosome number of selected *Solanum* genotypes. *European Potato Journal* 10:37-52.
- SONNINO, A.; IWANAGA, M.; HENOSTROZA, A. 1988. Chromosome number doubling of  $2x$  potato lines with diverse genetic background through tissue culture. *Potato Research* 31:627-632.
- SONNINO, A.; TANAKA, S.; IWANAGA, M.; SCHILDERENTSCHELER, L. 1989. Genetic control of embryo formation in anther culture of diploid potatoes. *Plant Cell Reports* 8:105-107.
- WATANABE, K.; PELOQUIN, S.J. 1989. Occurrence of  $2n$  pollen and *ps* gene frequencies in cultivated groups and their related wild species in tuber-bearing *Solanums*. *Theoretical and Applied Genetics (Alemania)* 8:329-336.
- WENZEL, G.; MEYER, C.; UHRIG, H.; SCHIEDER, O. 1980. Current status of exploitation of monohaploid and protoplast fusion and potential in potato breeding. In *Planning Conference on Utilization of Genetic Resources of the Potato (3.)*. Report. CIP p. 169-183.
- WERNER, J.E.; PELOQUIN, S.J. 1990. Inheritance of two mechanisms of  $2n$  egg formation in  $2x$  potatoes. *Journal Heredity (EE UU)* 81:371-374.
- WERNER, J.E.; PELOQUIN, S.J. 1992. Yield and tuber characterization of  $4x$  progeny from  $2x \times 2x$  crosses. *Potato Research*. (En prensa).
- YERK, G.L. 1987. Generation of  $2n$  pollen producing haploid tuberosum wild species hybrids in potato. Tesis M.Sc. University of Wisconsin, Madison. 101 p.
- ZIMMOCH-GUZOWSKA, E. 1986. Breeding of diploid potatoes an associated research in the Institute for Potato Research in Poland. In *Potato research of tomorrow*. A.G.B. Beekman, K.M. Louwes, L.M.W. Dellaert, A.E.F. Neele (Eds.). Wageningen, The Netherlands, Pudoc. p. 115-119.

## LIBRO RECOMENDADO



*Acarología. E. Doreste S. 2a. ed. 1988. 410 p.*  
**ISBN 92-9039-133 2.**

Profundiza en sus 13 capítulos, 12 cuadros y 94 figuras, aspectos relevantes de esta disciplina científica. La exposición metodológica y amplia descripción de los ácaros hacen de esta obra una valiosa fuente de referencia y consulta en taxonomía, metodología de control y descripción gráfica. Constituye un gran aporte a la educación agropecuaria superior en América Latina y el Caribe.

**US\$12.00**

Ver lista de publicaciones disponibles para la venta y boleta de solicitud en la última sección de la revista Turrialba.