

Conservación *in vitro* de cultivares de *Ipomoea batatas* (L.) Lam por crecimiento mínimo con el uso de manitol

Aymé Rayas Cabrera*, Jorge López Torres, Víctor R Medero Vega, Milagros Basail Pérez, Arletys Santos Pino, Yenisey Gutiérrez Sánchez

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Apdo 6. Santo Domingo. Villa Clara. Cuba. CP 53 000.

*Autor para correspondencia e-mail: conserv.biotec@inivit.cu

RESUMEN

La conservación *in vitro* de *Ipomoea batatas* (L.) Lam permite el intercambio de germoplasma y su disponibilidad para programas de mejoramiento genético. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de manitol y ácido abscísico en la conservación mediante crecimiento mínimo de cultivares de *I. batatas* del Banco de Germoplasma del INIVIT. Los tratamientos incluyeron ácido abscísico (ABA) (5 y 10 mg l⁻¹) y manitol (1.0, 1.5 y 2.0%) en un medio de cultivo MS basal, la combinación de ABA (10 mg l⁻¹) y manitol (1.0, 1.5 y 2.0%). Como controles se emplearon el medio de cultivo MS basal y MS con sorbitol (1.0%) y glucosa (1.0%). En los cultivares 'Cautillo' e 'INIVIT BS 16-2006' se obtuvieron los mejores resultados de supervivencia, disminución del crecimiento y hojas verdes pero pequeñas en los tratamientos que contenían el medio de cultivo basal con manitol (10, 15 y 20%). En los medios de cultivo con ácido abscísico no se logró crecimiento de los explantes. El medio de cultivo MS con 2 mg l⁻¹ de tiamina, 100 mg l⁻¹ de mio-inositol y 1.0% de manitol, posibilita la conservación *in vitro* de cultivares de boniato entre seis y ocho meses

Palabras clave: agente osmótico, boniato, germoplasma, medio de cultivo

In vitro conservation of *Ipomoea batatas* (L.) Lam cultivars by minimum growth with the use of mannitol

ABSTRACT

In vitro conservation of *Ipomoea batatas* (L.) Lam allows the exchange of germplasm and its availability for breeding programs. The objective of this work was to determine the effect of mannitol and abscisic acid in the conservation through minimum growth of *I. batatas* cultivars from INIVIT Germplasm Bank. Treatments included abscisic acid (ABA) (5 and 10 mg l⁻¹) and mannitol (1.0, 1.5 and 2.0%) in a basal MS culture medium, the combination of ABA (10 mg l⁻¹) and mannitol (1.0, 1.5 and 2.0%). As controls were used the MS basal culture medium and MS with sorbitol (1.0%) and glucose (1.0%). In the cultivars 'Cautillo' and 'INIVIT BS 16-2006' the best results of survival, growth decrease and green but small leaves were obtained in the treatments that contained the basal culture medium with mannitol (10, 15 and 20%). Growth of the explants was not achieved in culture media with abscisic acid. The MS culture medium with 2 mg l⁻¹ of thiamine, 100 mg l⁻¹ of myo-inositol and 1.0% of mannitol, allows the *in vitro* conservation of sweet potato cultivars between six and eight months.

Keywords: osmotic agent, sweet potato, germplasm, culture medium

INTRODUCCIÓN

Ipomoea batatas (L.) Lam (boniato) es una planta dicotiledónea que pertenece a la familia *Convolvulaceae*. Se propaga principalmente

de forma vegetativa por esquejes o brotes enraizados (Dugassa y Feyissa, 2011).

Ha sido tradicionalmente visto como un 'cultivo de personas pobres' o 'cultivo

huérfano, y ha atraído una atención limitada en comparación con otros cultivos básicos. Sin embargo, durante la última década, esta percepción ha cambiado, por su alto valor nutricional, rica en carbohidratos, almidón, minerales y vitaminas (Dinu y Soare, 2015) y es ampliamente reconocido que tiene un gran potencial para contribuir al alivio de la desnutrición y el hambre en el mundo en desarrollo (Mwanga *et al.*, 2017). Según FAOSTAT (2016), es el séptimo cultivo en términos de producción a nivel mundial y el cuarto lugar entre los cultivos alimentarios.

En lo referente a las condiciones agroecológicas, *I. batatas* como especie cultivada y silvestre posee una amplia variabilidad genética que se expresa en la adaptación a condiciones ambientales diversas. Adicionalmente, su manejo agronómico resulta más económico que el de otros cultivos, en términos de menores requerimientos de fertilizantes y plaguicidas (Tique *et al.*, 2009).

Debido al enorme interés comercial en *I. batatas*, se necesita la conservación del germoplasma de esta especie. La diversidad contenida en un germoplasma debe estar protegida contra las pérdidas. La base de todo mejoramiento genético radica en la diversidad genética, que se refleja en la creación de plantas con resistencia / tolerancia a diversos factores bióticos y abióticos, para asegurar una mayor productividad (Arrigoni-Blank *et al.*, 2014).

Varios autores han establecido métodos para la propagación *in vitro* de *I. batatas* y es posible obtener plantas libres de patógenos a partir del cultivo de meristemos y luego multiplicar masivamente estas plantas mediante las técnicas de micropropagación (Salinas, 1990; González *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2003) y la conservación del material vegetal (Jarret *et al.*, 1991; Siguéñas, 1997; Rayas *et al.*, 2016). Estudios realizados han demostrado que las sales minerales y la sacarosa son componentes esenciales para el crecimiento y la supervivencia de plantas de *I. batatas in vitro* y no deben ser suprimidas en el medio de cultivo de crecimiento (Vettorazzi *et al.*, 2017). Atendiendo a esto, los métodos de conservación deben preservar dichos componentes en el medio de cultivo.

La conservación de los recursos fitogenéticos garantiza su posible utilización como fuente de variación genética potencialmente útil, a la vez que evita la pérdida de diversidad genética en la agricultura, con la consiguiente reducción del material vegetal disponible para el uso de las generaciones presentes y futuras. En el cultivo de *I. batatas* se desarrollan varios programas que posibilitan la obtención de nuevos cultivares con el objetivo de mejorar la calidad nutricional de esta raíz tuberosa (Morales-Tejón *et al.*, 2016). Así, mediante la vía del policruzamiento de variedades conservadas en el Banco de Germoplasma del INIVIT, Morales-Tejón *et al.* (2017) obtuvieron las progenies que, en un periodo de seis años de evaluación y selección, dieron origen al primer cultivar cubano de boniato de masa totalmente morada y características agronómicas deseables denominado 'INIVIT BM-90', con alto contenido de antocianinas.

El incremento en el número de entradas mantenidas en los bancos de germoplasma impulsa la implementación de técnicas más eficientes para la conservación a mediano y largo plazo. De esta forma, se asegura la disponibilidad de variabilidad genética de las especies y la preservación de la biodiversidad vegetal (Rivero, 2007; Parrado *et al.*, 2013; Monteros-Altamirano *et al.*, 2018). En este proceso se abre el camino a las posibilidades para el desarrollo y evolución de diversas especies. La conservación *in vitro* se ha perfilado como una alternativa valiosa para la combinación de técnicas de almacenamiento en lugar de depender de una sola.

La conservación *in vitro* libera las plantas de los riesgos que se producen en el campo, reduce los costos, asegura el mantenimiento de la fidelidad genética y facilita el intercambio de germoplasma. El objetivo de esta práctica es maximizar el período de subcultivo o extenderlo indefinidamente. Para lograrlo, se realizan cambios en el entorno de cultivo (Roca *et al.*, 1994; Arrigoni-Blank *et al.*, 2014).

I. batatas es susceptible a un gran número de enfermedades causadas por hongos, virus y nematodos. También es vulnerable a plagas como insectos y ácaros; por lo tanto, el banco de germoplasma activo en el campo

es sensible a la pérdida y, por ende, requiere de conservación *in vitro* (Arrigoni-Blank *et al.*, 2014).

En el cultivo de *I. batatas* se han realizado investigaciones para la conservación *in vitro* del germoplasma (Pennycooke y Towill, 2000; Espinosa *et al.*, 2002; Espinosa *et al.*, 2003; Rayas *et al.*, 2016). Sin embargo, no siempre se consigue disminuir el crecimiento, se obtienen resultados variables unido a que varios autores han referido que la respuesta a la conservación depende del genotipo (Silva *et al.*, 2002; Dugassa y Feyissa, 2011; Arrigoni-Blank *et al.*, 2014). Por ello el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de manitol y ácido abscísico en la conservación mediante crecimiento mínimo a mediano plazo de cultivares del Banco de germoplasma de *I. batatas* en el INIVIT.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), durante el período comprendido de abril de 2016 a marzo del 2017.

Para desarrollar el trabajo se utilizaron los cultivares de boniato 'Cautillo' (que se caracteriza por lento crecimiento *in vitro*) e 'INIVIT BS – 16 – 2006' (Cultivar de rápido crecimiento *in vitro*).

Para el establecimiento *in vitro* se utilizaron como explantes, meristemas de uno o dos primordios foliares (0.2–0.3 mm), procedentes de tubérculos previamente diagnosticados por la técnica de Inmunoensayo Ligado a Enzima a partir del kit *Antigen Coated Plate ELISA* para el prupo de potivirus (*Virus del moteado del boniato*, *Virus latente del boniato* y *Virus de moteado suave del boniato*), según el procedimiento descrito por Rayas *et al.* (2016). Se empleó un medio de cultivo que contenía las sales MS (Murashige y Skoog, 1962), tiamina (2.0 mg l⁻¹), 6-bencil aminopurina (6-BAP) (0.3 mg l⁻¹), ácido naftalenacético (ANA) (0.03 mg l⁻¹) y 50.0 g l⁻¹ de sacarosa.

Los explantes fueron incubados a 27 ± 2°C y régimen de 16 horas de luz (DFFF de 62-

68 μmol m⁻²s⁻¹) y ocho de oscuridad, durante 35 días.

Posteriormente, se multiplicaron *in vitro* los cultivares objeto de estudio según metodología descrita por Love *et al.* (1989), hasta disponer de la cantidad de material vegetal necesario para utilizar como explantes segmentos nodales de plantas *in vitro* de aproximadamente 2.0 cm de longitud.

Para seleccionar el medio de cultivo de crecimiento mínimo que permitiera la conservación *in vitro* de *I. batatas*, se utilizó como medio de cultivo basal (MB) las sales propuestas por Murashige y Skoog (1962) (MS), 100 mg l⁻¹ de mio-inositol, 1.0 mg l⁻¹ de tiamina y 30 g l⁻¹ de sacarosa. El medio de cultivo basal se combinó con ácido abscísico (ABA) y manitol y se conformaron los siguientes tratamientos:

M0. MB.

M1. MB + ácido abscísico (5 mg l⁻¹)

M2. MB + ácido abscísico (10 mg l⁻¹)

M3. MB + manitol (1.0%)

M4. MB + manitol (1.5%)

M5. MB + manitol (2.0%)

M6. MB + ácido abscísico (10 mg l⁻¹) + manitol (1.0%)

M7. MB + ácido abscísico (10 mg l⁻¹) + manitol (1.5%)

M8. MB + ácido Abscísico (10 mg l⁻¹) + manitol (2.0%)

M9. MB + sorbitol (1.0%) + glucosa (1.0%). (Control)

Todos los medios de cultivo se solidificaron con 4.7 g l⁻¹ de agar E (Biocen) y el pH se ajustó a 5.7 antes de la esterilización en autoclave.

Se utilizaron como controles el tratamiento M0 que contenía solo el medio de cultivo basal y el tratamiento M9, medio de cultivo recomendado por Rayas *et al.* (2016) por los resultados obtenidos en el cv. 'Cautillo'.

Se emplearon 30 tubos de ensayo (150 x 25 mm) con 10 ml de medio de cultivo y un explante por tubo y se evaluaron 20 explantes al azar.

Se evaluó a los seis y ocho meses mediante observación visual la supervivencia de los explantes (cálculo de porcentaje a partir del número de explantes vivos), se midió la altura

de la plántula (cm), con la ayuda de una regla graduada y se cuantificó el número de hojas activas (hojas verdes).

Una vez seleccionado el medio de cultivo con mejores resultados en la conservación, este se determinó su efecto en 12 cultivares cubanos de boniato, procedentes de la colección de germoplasma de boniato del INIVIT. A los seis meses se evaluó la supervivencia (%), se midió la altura de la planta (cm) y se cuantificó el número de hojas activas y el número de brotes por planta.

Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS ver. 15.0 para Windows. Puesto que se encontró normalidad y homogeneidad de varianzas, con un nivel de significación de $p < 0.05$, los datos se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple (completamente al azar) y la comparación múltiple de medias se realizó según la prueba de Tukey.

Para evaluar la influencia del medio de cultivo de crecimiento mínimo en diferentes cultivares

se realizó la comparación de medias mediante la prueba de Bonferroni por tener diferentes números de réplicas por cultivar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la conservación *in vitro* se apreció que en el cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006' después de seis meses de conservación el mayor porcentaje de supervivencia se observó en los medios de cultivo que contenían manitol (M3, M4, M5). Estos fueron los únicos que a los ocho meses mostraban supervivencia de los explantes superior al 80%. En el cv. 'Cautillo' también a los seis meses la supervivencia fue superior en los medios de cultivo con manitol (Tabla 1) (Figura 1).

Se comprobó que el ABA afectó la supervivencia de los explantes. En los medios de cultivo donde se adicionó solo (M2 y M3) se observaron bajos porcentajes de supervivencia de los explantes, los que no lograron superar el 54% a los seis meses y murieron antes de los ocho meses en ambos cultivares. De igual forma, cuando se combinó con manitol no se obtuvieron buenos resultados.

Tabla 1. Supervivencia de explantes de *I. batatas* cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006' y 'Cautillo' a los seis y ocho meses de conservación *in vitro* en medios de cultivo de crecimiento mínimo.

Tratamientos	cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006'.		cv 'Cautillo'	
	6 meses	8 meses	6 meses	8 meses
M0 (MB) control (C)	54 b	0	45 b	78 b
M1 (MB ABA 5.0 mg l ⁻¹)	38 c	0	34 c	0
M2 (MB ABA 10 mg l ⁻¹)	42 c	0	38 c	0
M3 (MB Manitol 1.0%)	92 a	85 a	92 a	89 a
M4 (MB Manitol 1.5%)	88 a	80 a	98 a	94 a
M5 (MB Manitol 2.0%)	91 a	90 a	93 a	91 a
M6 (MB ABA 10 mg l ⁻¹ Manitol 1.0%)	28 c	0	0	0
M7 (MB ABA 10 mg l ⁻¹ Manitol 1.5%)	31 c	0	0	0
M8 (MB ABA 10 mg l ⁻¹ Manitol 2.0%)	23 c	0	0	0
M9 (MB sorbitol 1%, glucosa 1.0%) (C)	61 b	0	52 b	0

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey para $p < 0.05$ $n = 20$

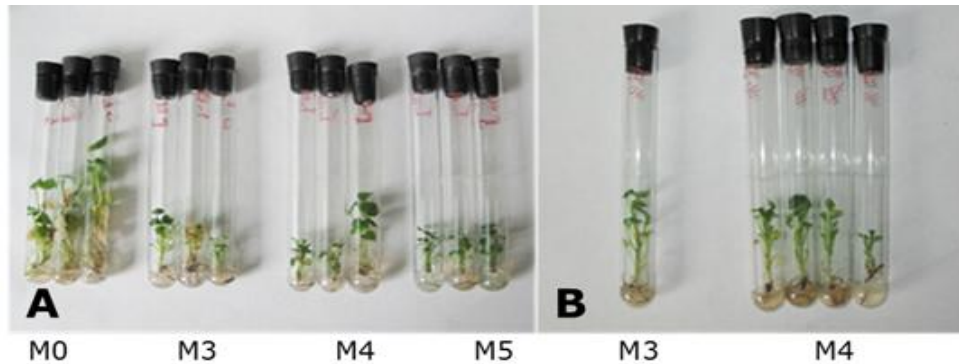


Figura 1. Plantas de *Ipomoea batatas* cv. 'Cautillo' (A) e 'INIVIT BS-16 - 2006' (B) a los ocho meses de conservadas *in vitro* en medios de cultivo de crecimiento mínimo. M0. Medio de cultivo basal, M3. Medio de cultivo con 1.0% de manitol, M4. Medio de cultivo con 1.5% de manitol, M5. Medio de cultivo con 2.0% de manitol.

Contrario a los resultados en esta investigación, Espinosa *et al.* (2003) conservaron cuatro cultivares de boniato durante un año en medio de cultivo con 10.0 mg l⁻¹ de ABA con altos porcentajes de supervivencia ($\geq 85.5\%$) y recuperación ($\geq 97.5\%$), entre los que se encontraba el cv. 'Cautillo'. Sin embargo, Arrigoni-Blank *et al.* (2014), quienes estudiaron el efecto de concentraciones de ABA en varios cultivares de boniato concluyeron que podrían conservarse durante 180 días con 2.0 mg l⁻¹ de ABA, con una mediana supervivencia (78%). Estos autores sugirieron que este regulador afectaba negativamente la supervivencia de los explantes, lo cual coincide con los resultados de este trabajo donde se emplearon concentraciones superiores. Además, apuntaron que las diferentes respuestas morfogénicas durante la conservación *in vitro* del boniato podían estar relacionadas con el genotipo debido a que usaron varios cultivares en sus ensayos. Además, las características del material vegetal con se trabaje, el tamaño del explante inicial y las condiciones ambientales de conservación también pueden influir lo cual explicaría las diferencias entre los porcentajes de supervivencia del cultivar 'Cautillo' de este trabajo con respecto a los informados por Espinosa *et al.* (2003) y Rayas *et al.* (2016).

En cuanto al efecto del manitol se conoce que la limitación del crecimiento por efecto de la concentración del agente osmótico se debe a la reducción de la adsorción de agua y nutrientes del medio de cultivo (García-Águila *et al.*, 2007). Sin embargo, las concentraciones empleadas en este trabajo aunque redujeron el crecimiento no afectaron la supervivencia de las plantas de los dos cultivares aun a los ocho meses de

conservadas. Resultados contrarios obtuvieron Díaz *et al.* (2015) en la conservación *in vitro* de *Dioscorea* spp. por crecimiento mínimo con este agente osmótico.

En ambos cultivares se observó que en los medios de cultivo con ABA las plantas no crecieron (0.6 cm) y a los ocho meses ya habían muerto, mientras que, en los medios de cultivo con manitol, sin ABA (M3, M4 y M5) aunque se apreció una reducción en la altura de la planta se mantenían vivas aun después de los ocho meses (Tabla 2).

Los resultados coinciden con informes de otros autores que han referido el uso de manitol para la conservación *in vitro* de plantas. Al respecto, Fortes y Scherwinski-Pereira (2001) observaron que este agente osmótico produjo una reducción del crecimiento y número de los brotes en papa (*Solanum tuberosum*, L.) en comparación con la sacarosa. Sin embargo, Borges *et al.* (2009) al estudiar el efecto del manitol en el crecimiento mínimo del ñame (*Dioscorea alata* L.) concluyeron que al utilizar concentraciones superiores a 1.5% se afectaba de manera significativa la supervivencia del material vegetal. Por otra parte, Lata *et al.* (2010) informaron que de 2 a 4% de manitol no es adecuado para la conservación *in vitro* de la planta medicinal *Podophyllum peltatum* L.

Otro de los efectos negativos de ABA se relacionó con la no formación de hojas en las plantas crecidas en los medios de cultivo que lo contenían. Sin embargo, en presencia de manitol se formaron hojas pequeñas que se mantuvieron verdes por tiempos prolongados (Tabla 3).

Tabla 2. Efecto del medio de cultivo sobre la altura (cm) de los explantes en medios de cultivo de crecimiento mínimo a los seis y ocho meses en los cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006' y 'Cautillo'.

Tratamientos	cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006'		cv 'Cautillo'	
	6 meses	8 meses	6 meses	8 meses
M0	3.44 b	0	2.60 b	6.50 a
M1	0.90 d	0	0.50 d	0
M2	0.90 d	0	0.50 d	0
M3	3.87 b	5.01 a	1.91 c	2.50 b
M4	2.60 c	5.50 a	2.14 c	3.80 b
M5	2.16 c	3.00 a	1.94 c	3.00 b
M6	0.60 d	0	0 e	0
M7	0.60 d	0	0 e	0
M8	0.60 d	0	0 e	0
M9	4.15 a	0	3.21 a	0

M0 (MB) control (C), M1 (MB ABA 5 mg l⁻¹), M2 (MB ABA 10 mg l⁻¹), M3 (MB Manitol 1.0%), M4 (MB Manitol 1.5%), M5 (MB Manitol 2.0%), M6 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 1.0%), M7 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 1.5%), M8 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 2.0%), M9 (MB sorbitol 1.0%, glucosa 1.0%) (C). *Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey para p<0.05 n=20*

Tabla 3. Efecto del medio de cultivo sobre el número de hojas de explantes de *Ipomoea batatas* cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006' y 'Cautillo' conservados durante seis y ocho meses en medios de cultivo de crecimiento mínimo.

Tratamientos	cv. 'INIVIT BS – 16 – 2006'		cv 'Cautillo'	
	6 meses	8 meses	6 meses	8 meses
M0	3.0 b	0	5.10 c	5.0 a
M1	0 c	0	0	0
M2	0 c	0	0	0
M3	4.8 ab	4.3 ab	4.10 d	2.5 b
M4	5.2 a	5.5 a	6.24 b	3.8 b
M5	3.6 b	2.7 b	7.20 a	3.0 b
M6	0 c	0	0	0
M7	0 c	0	0	0
M8	0 c	0	0	0
M9	5.8 a	0	4.50 cd	0

M0 (MB) control (C), M1 (MB ABA 5.0 mg l⁻¹), M2 (MB ABA 10 mg l⁻¹), M3 (MB Manitol 1.0%), M4 (MB Manitol 1.5%), M5 (MB Manitol 2.0%), M6 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 1.0%), M7 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 1.5%), M8 (MB ABA 10 mg l⁻¹ Manitol 2.0%), M9 (MB sorbitol 1.0%, glucosa 1.0%) (C). *Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey para p<0.05 n=20*

Atendiendo a los resultados se seleccionó el medio de cultivo basal que contenía las sales MS, 2 mg l⁻¹ de tiamina, 100 mg l⁻¹ de mio-inositol y además 1.0% de manitol (Tratamiento M3), para la conservación *in vitro* de 12 cultivares de la colección de germoplasma. Entre estos se observaron diferencias significativas en cuanto a la altura de la planta obtenida *in vitro*, el número de hojas y el número de brotes

formados después de conservados durante seis meses. Los valores de supervivencia fueron superiores al 80%, sin diferencias significativas entre ellos (Tabla 4, Figura 2). Este resultado evidenció el efecto del genotipo y sugiere la necesidad de clasificar los cultivares para formar grupos según sus hábitos de crecimiento, lo que simplificaría las labores al no subcultivar toda la colección *in vitro* con la misma frecuencia.

Tabla 4. Respuesta de cultivares de *Ipomoea batatas* a los seis meses de conservados en el medio de cultivo que contenía 1.0% de manitol.

Número de introducción	Cultivar	Altura	Número de Hojas	Número de brotes
83	Cuba 5	4.30 bcd	4.85 bc	1.57 ab
241	CEMSA 78-16	8.15 a	3.50 c	1.00 b
1933	-	3.12 cd	3.50 c	1.00 b
87	Habanista	3.42 cd	6.66 ab	1.44 ab
986	Sergio	5.00 bc	6.00 abc	1.00 b
1990	-	2.71 d	6.33 ab	2.16 a
91	Amandado	3.87 bcd	6.71 ab	1.00 b
1739	INIVIT B – 88	3.70 cd	8.00 a	2.25 a
1796	Perla	7.10 a	4.33 b	1.00 b
1036	Minita	2.80 d	5.16 bc	1.60 ab
297	Mutación – 5	5.41 b	5.87 bc	1.00 b
1804	ITA-TIS 2498	3.35 cd	6.00 ab	1.50 ab

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Bonferroni para $p < 0.05$

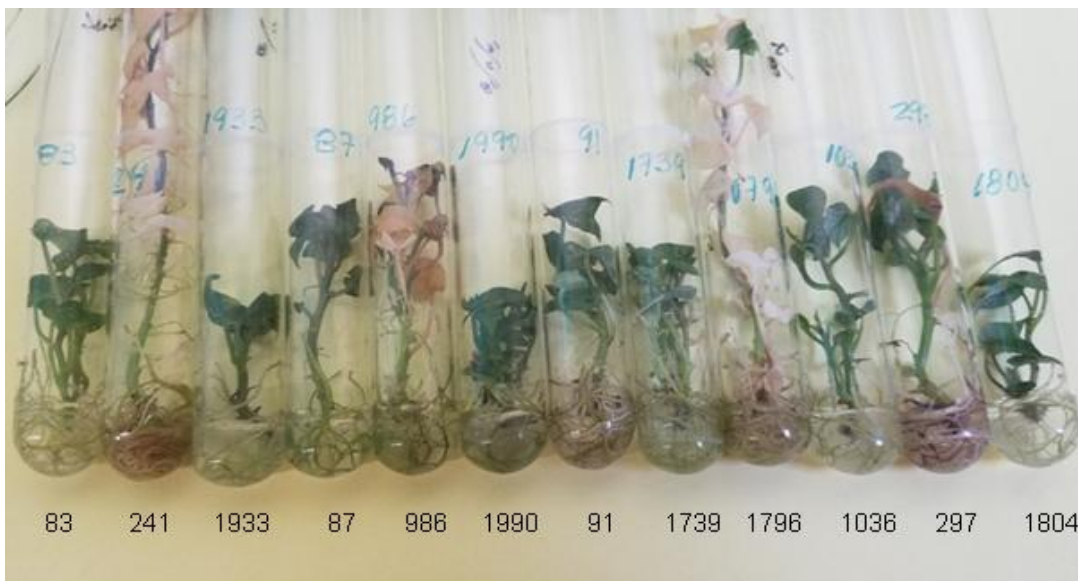


Figura 2. Aspecto de 12 cultivares de boniato conservados en medio de cultivo para el crecimiento mínimo que contiene 1.0% de manitol.

CONCLUSIONES

El medio de cultivo MS con 2.0 mg l⁻¹ de tiamina, 100 mg l⁻¹ de mio-inositol y 1.0% de manitol, posibilita la conservación *in vitro* de cultivares de boniato, entre seis y ocho meses.

Conflicto de interés

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Arrigoni-Blank MDF, Tavares FF, Blank AF, Santos MCD, Menezes TSA, Santana ADD (2014) *In Vitro* Conservation of Sweet Potato Genotypes. The Scientific World Journal 2014: 1-7; doi:10.1155/2014/208506
- Borges M, Alarcón Y, Malaurie B, Hernández Y, Silva JJ (2009) Conservación *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon caraqueño (*Dioscoreaceae*). Rev Perú Biol 16(2): 203- 208
- Díaz LC, Carmona O, Beltrán JD (2015) Optimización de la conservación *in vitro* de germoplasma de *Dioscorea* spp. por crecimiento mínimo. Rev colomb biotecnol 17 (1): 32-39; doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50842
- Dinu M, Soare R (2015) Researches on the sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) behavior under the soil and climatic conditions of the South-West of Romania. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology 19(1): 79- 84
- Dugassa G, Feyissa T (2011) *In vitro* production of virus-free sweet potato *Ipomoea batatas* (L.) Lam by meristem culture and thermotherapy. Ethiop J Sci 34(1): 17-28
- Espinosa A, Salas L, González O, Silva JJ (2002) Empleo del ácido abscísico, manitol y la disminución de las sales del medio de cultivo en la conservación *in vitro* de *Ipomoea batatas*. Biotecnología Vegetal 2(1): 49-42
- Espinosa A, González O, Silva JJ (2003) Conservación *in vitro* de clones de boniato en condiciones de crecimiento mínimo. Biotecnología Vegetal 3(1): 37-41
- FAOSTAT (2016) Statistical database (online) of Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available in: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>. Accessed 06/06/2018
- Fortes GR, Scherwinski-Pereira JE (2001) Preservação *in vitro* de batata com ácido acetilsalicílico e duas fontes de carboidrato. Pesquisa Agropecuária Brasileira 36: 1261-1264
- García-Águila L, de Feria M, Acosta K (2007) Aspectos básicos de la conservación *in vitro* de germoplasma vegetal. Biotecnología Vegetal 7(2): 67-79
- González OS, Hernández M, Silva JJ, Montes S, López M, Sigarroa A (2003) Establecimiento *in vitro* de yemas de *Ipomoea batatas*. Biotecnología vegetal 3(2): 67-75
- Jarret R, Salazar S, Fernandez Z (1991) Somatic embryogenesis in Sweet potato. HortScience 19(3): 397-398
- Lata H, Moraes RM, Bertoni B, Pereira AMS (2010) *In vitro* germplasm conservation of *Podophyllum peltatum* L. under slow growth conditions. *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 46: 22-27; doi: 10.1007/s11627-009-9243-5
- Love SL, Rhodes BB, Moyer JW (1989) Meristem-tip culture and virus indexing of sweet potatoes (second edition). International Board for Plant Genetic Resources, Rome
- Monteros-Altamirano A, Tacán M, Peña G, Tapia C, Paredes N, Lima L (2018) Guía para el manejo de los recursos fitogenéticos en Ecuador. Protocolos. Publicación miscelánea No. 432. INIAP, Estación Experimental Santa Catalina. Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos, Mejía, Ecuador
- Morales-Tejón A, Morales-Rodríguez A, Rodríguez-del-Sol D (2016) Efectos de la consanguinidad en caracteres de boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) Rev. Agricultura Tropical 2(1): 18-28
- Morales-Tejón AL, Rodríguez-de Sol D, Morales-Rodríguez A, Rodríguez-Morales SJ, Masa-Estrada NJ, Lima-Díaz MA (2017) INIVIT BM-90, nuevo cultivar de boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) con alto contenido de antocianina. Cultivos Tropicales 38(2): pp 80

- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497
- Mwanga ROM, Andrade MI, Carey EE, Low JW, Yencho GC, Grüneberg WJ (2017) Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.). En: Campos H, Caligari PDS (eds). *Genetic Improvement of Tropical Crops*, pp. 181-218. Springer International Publishing, Dordrech; doi: 10.1007/978-3-319-59819-2_6
- Parrado OL, Caballero R, Pérez RA (2013) Recursos genéticos del boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) en Cuba Especies silvestres. *Revista Agrisost* 19(1): 1-35
- Pennycooke JC, Towill LE (2000) Cryopreservation of shoot tips from *in vitro* plants of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) by vitrification. *Plant Cell Reports* 19: 733-737
- Rayas A, Arce D, Santos A, Basail M, López J, Medero V, Bauta M (2016) Conservación *in vitro* de boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cv. 'Cautillo'. *Rev Agricultura Tropical* 2(1): 41-51
- Rivero MV (2007) Crioconservación de germoplasma de batata (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Tesis para optar por el título de Licenciado en Biología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Castelar, Argentina
- Roca WM, Escobar R, Mafla G (1994) Conservación de germoplasma de yuca *in vitro*. Principios y técnicas. CIAT, Cali
- Salinas R (1990) Cultivo *in vitro* de embriones de Camote (*Ipomoea batatas* Lam.). Tesis de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Agraria, Lima, Perú
- Sigueñas C (1997) Propagación y Conservación *in vitro* de dos cultivares de Camote (*Ipomoea batatas* Lam.). Tesis para optar por el título de Biólogo, Universidad Nacional Agraria de la Molina, Lima, Perú
- Silva JJ, Hernández M, López M, Montes S, González OS (2003) Micropropagación *in vitro* del boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) alternativa para la disponibilidad de material con vista a la producción de alimentos. *Alimentaria* 343: 83-86
- Tique J, Chaves B, Zurita JH (2009) Evaluación agronómica de diez clones promisorios CIP y dos materiales nativos de *Ipomoea batatas* L. *Agronomía Colombiana* 27(2): 151-158
- Vettorazzi RG, Silva V, Pombo C, Rodrigues R (2017) Developing an *in vitro* optimized protocol to sweet potato landraces conservation. *Acta Scientiarum. Agronomy Maringá* 39(3): 359-367; doi: 10.4025/actasciagron.v39i3.32700

Recibido: 05-09-2018

Aceptado: 18-12-2018

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y autores.