Rev. Agricultura Tropical Vol. 9, No. 2:51-60, julio-diciembre, 2023
ISSN on line: 2517-9292, RNPS: 2397

CONSERVACIÓN *IN VITRO* DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz) EN MEDIOS DE CULTIVO DE CRECIMIENTO MÍNIMO

Aymé Rayas Cabrera*, Víctor Medero Vega, Arletys Santos Pino, Sadi Trujillo Machado.
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.
** Autora para la correspondencia: conserv.biotec@inivit.cu*

Recibido: 23 de agosto de 2023; Aceptado: 18 de octubre de 2023

RESUMEN
La yuca es considerada la cuarta fuente de energía de las regiones tropicales del mundo, por lo que es un cultivo importante como fuente de carbohidratos y calorías para millones de personas en el trópico. Para lograr un incremento de la productividad de los cultivos sin degradación de la base de los recursos del agroecosistema es necesario un acceso continuo a la mayor variabilidad genética disponible. En el caso de los cultivos de propagación vegetativa es conveniente utilizar una combinación de técnicas de almacenamiento. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar diferentes medios de cultivo para la conservación *in vitro* de la yuca en condiciones de crecimiento mínimo. Se utilizaron como explante inicial, meristemos apicales con uno o dos primordios foliares de cuatro cultivares de yuca, los que se multiplicaron. Para la conservación se utilizaron segmentos nodales de una yema de las plántulas establecidas *in vitro*. Se estudiaron cuatro medios de cultivo empleados con frecuencia internacionalmente en este tipo de ensayo *in vitro*. Fue posible determinar que en el medio de cultivo constituido por MS, Sacarosa (4%), BAP (0.02 mg L^{-1}), AG_3 (0.1 mg L^{-1}), ANA (0.01 mg L^{-1}), se obtuvieron los mejores porcentajes de supervivencia a los seis y 12 meses y se produjo una reducción del crecimiento similar al medio de cultivo de crecimiento mínimo recomendado por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) de Colombia. Existe mayor influencia del medio de cultivo que del genotipo.
Palabras clave: conservación *ex situ*, cultivo de tejidos, recursos genéticos vegetales

IN VITRO CONSERVATION OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) IN MINIMAL GROWTH CULTURE MEDIUMS

ABSTRACT
Cassava is considered the fourth largest source of energy in tropical regions of the world, making it an important crop as a source of carbohydrates and calories for millions of people in the tropics. To achieve increased crop productivity without degrading the agroecosystem resource base, continued access to the greatest available genetic variability is necessary. In the case of vegetatively propagated crops, it is desirable to use a combination of storage techniques. The present work was carried out with the objective of evaluating different culture media for the in vitro conservation of cassava under minimum growth conditions. Apical meristems with one or two leaf primordia of four cassava cultivars were used as initial explants and multiplied. Nodal segments from one bud of the seedlings established in vitro were used for preservation. Four culture media frequently used internationally in this type of *in vitro* assay were studied. It was possible to determine that the culture medium consisting of MS salts, sucrose (4%), BAP

(0.02 mg L^{-1}), AG_3 (0.1 mg L^{-1}), ANA (0.01 mg L^{-1}), obtained the best survival percentages at six and 12 months and produced a reduction in growth similar to the minimum growth culture medium recommended by the International Center for Tropical Agriculture (CIAT) of Colombia. There is a greater influence of the culture medium than of the genotype.
Keywords: *ex-situ* conservation, tissue culture, plant genetic resources

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), es un alimento básico para muchas familias de escasos recursos, y materia prima para diversas industrias como la farmacéutica y la textil. También se usa en la elaboración de almidón, alcohol, fibra y en la nutrición animal, entre otros (Blagbrough *et al*., 2010). La producción mundial se ubica en un lugar importante pues el producto llega a más de 3 000 millones de consumidores, de ellos, 1 000 millones pertenecen a países en vías de desarrollo. Se producen alrededor de 300 millones de toneladas de raíces frescas, en un total de más de 28 millones de hectáreas. (Garcés y Rosario, 2020; FAOSTAT, 2022).

En Cuba la yuca se cultiva desde tiempos anteriores a la conquista y más que un alimento tradicional, es un símbolo de identidad social y cultural. Recientes estudios realizados en la amplia Colección Cubana de Germoplasma de Yuca evidencian la existencia de una amplia variabilidad genética y de cultivares tradicionales con características deseables por los productores (buena calidad culinaria, buen desarrollo vegetativo y rendimientos superiores a las 25 t ha^{-1}) (Beovides *et al.,* 2014).

La combinación de métodos tradicionales con técnicas modernas para la conservación de germoplasma, permite detener el deterioro del material vegetal y conservar la variabilidad genética. Las técnicas de la micropropagación y conservación *in vitro*, han sido aplicadas con éxito por varios autores (Aighewi *et al*., 2015; Díaz *et al.,* 2015., Acosta, 2019; Corozo *et al.*, 2020). 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 (Monteros-Altamirano *et al.,* 2018).

El cultivo de tejidos vegetales constituye una alternativa para la conservación del germoplasma de especies que se propagan vegetativamente. Su utilización permite mantener las colecciones en pequeños espacios, libres del ataque de enfermedades y catástrofes, además de facilitar el intercambio de germoplasma. Posibilita conservar plantas completas, meristemos, semillas, embriones somáticos, embriones cigóticos, hojas, tallos, raíces, yemas, polen, anteras, callos o protoplastos (Márquez, 2013).

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. Por lo anteriormente expuesto se define la importancia de crear un banco de genes *in vitro*, y conservar todas las entradas necesarias para representar la mayor variabilidad genética posible.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el medio de cultivo de crecimiento mínimo para la conservación *in vitro* de yuca (*Manihot esculenta* Crantz).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), durante los meses de enero de 2021 a septiembre de 2022.

Para realizar la presente investigación se utilizaron como explantes meristemos apicales con uno o dos primordios foliares. La desinfección se realizó con Hipoclorito de sodio 2,5%, durante 10 minutos. Se utilizaron los cultivares: 'CMC – 76', 'Crema – 1', 'INIVIT Y 93-4' y 'Clon 14', que fueron establecidos *in vitro* y multiplicados, según tecnología descrita anteriormente (Medero, 2006; Medero *et al.*, 2015). Como medio de cultivo basal se utilizaron las Sales MS (Murashige y Skoog, 1962), complementadas con 0,02 mg.L^{-1} de 6-Bencilaminopurina (BAP), 0,1 mg.L^{-1} de Ácido Giberélico (GA_3) y 0,01 mg.L^{-1} de Ácido Naftalen Acético (ANA).

Con el objetivo de determinar el mejor medio de cultivo para conservar *in vitro* la colección de germoplasma de yuca, se estudiaron tres medios de cultivo tomados como referencia de los principales bancos *in vitro* de germoplasma del mundo. Se utilizó como referencia el medio de cultivo utilizado en el banco de germoplasma del INIVIT (Rayas *et al.*, 2002):

M1. Medio de conservación (8S) (CIAT. 1984). MS + sacarosa (2%) + BAP (0,02 mg L^{-1} + GA (0,1 mg L^{-1}) + ANA (0,01 mg L^{-1}).

M2. Medio de crecimiento mínimo (NP) (Mafla *et al*., 2000). MS + Sacarosa (2%) + BAP (0,02 mg L^{-1}) + GA (0,1 mg L^{-1}) + ANA (0,01 mg L^{-1}) + Nitrato de plata (10 mg L^{-1}).

M3. Medio de crecimiento mínimo (INIVIT) (Rayas *et al.*, 2002) MS + Sacarosa (4%) + BAP (0,02 mg L^{-1}) + GA_3 (0,1 mg L^{-1}) + ANA (0,01 mg L^{-1}) (Control)

M4. Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007) MS + Sacarosa (3%) + BAP (0,15 mg L^{-1}) + GA_3 (0.08 mg L^{-1}) + ANA (0.01 mg L^{-1})

A los dos y seis meses de conservados los explantes en el medio de cultivo se evaluó porcentaje de supervivencia y altura del explante (cm).

A los 11 meses se evaluó, porcentaje de supervivencia, altura de la plántula (cm), número de hojas abiertas, formación de raíces y número de yemas.

Para determinar el grado de deterioro del explante se evaluó la senescencia foliar (Número de hojas secas).

Los resultados fueron analizados mediante SPSS para Windows V 25.0, a los dos y seis meses, la comparación de medias se realizó mediante un test de Bonferroni por ser el número de muestras diferente para los tratamientos. A los 11 meses la comparación múltiple de medias se realizó según Tukey cuando se encontró homogeneidad de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el porcentaje de supervivencia de los explantes a los dos y seis meses de conservados se observaron altos porcentajes de supervivencia, siendo la más elevada en el medio de cultivo recomendado por el INIVIT (Rayas *et al*., 2002) (Tabla 1).

Los explantes conservados en los medios de cultivo en estudio a los dos meses mostraron diferentes patrones de crecimiento: en el medio de cultivo de conservación (8S) recomendado por CIAT (1984), se observó formación de callos; en el medio de cultivo de crecimiento mínimo (NP) (Mafla *et al.,* 2000), así como poco crecimiento, sin formación de callo y escasa formación de pequeñas hojas. Al evaluar los explantes colocados en medio de cultivo de crecimiento mínimo INIVIT (Rayas *et al*., 2002), el crecimiento fue uniforme, formación de pequeña hoja apical, sin formación de callos ni

brotes, mientras que en el medio de cultivo de crecimiento mínimo recomendado por IITA (2007) el crecimiento fue no uniforme, formación de hojas grandes y raíces, entrenudos largos. (Tabla 2).

Tabla 1. Porcentaje de supervivencia de los explantes conservados *in vitro* a los dos y seis meses en el medio de cultivo de crecimiento mínimo.

Cultivar	**'CMC – 76'**		**'Crema-1'**		**'INIVIT Y 93-4'**		**'Clon 14'**		**X**	
Tratamiento	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**
8S	97,50	75,00	90,00	23,07	97,50	80,00	80,00	40,00	91,25	54,51
NP	100	50,00	72,50	13,79	100	100	90,00	57,50	90,62	55.32
INIVIT	100	90,00	82,50	51,51	100	95,00	92,50	77,50	93,75	78.50
IITA	100	80,00	50,00	35,00	100	97,50	90,00	57,50	85,00	67.50

Leyenda: 8S, Medio de cultivo de conservación del CIAT (CIAT. 1984); NP, Medio de crecimiento mínimo (NP) (Mafla *et al*., 2000); INIVIT, Medio de crecimiento mínimo (INIVIT) (Rayas *et al.*, 2002), IITA, Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007).

Tabla 2. Efecto del medio de cultivo sobre la altura del explante de cuatro cultivares de yuca en la conservación *in vitro* a los dos y seis meses de conservados.

Cultivares	**'CMC-76'**		**'Crema-1'**		**'INIVIT Y 93-4'**		**'Clon 14'**		**Medias de los tratamientos**	
Tratamientos	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**	**2 meses**	**6 meses**
8S	3,27 b	9,25 b	1,70 a	2,63 b	2,26 b	7,61 b	1,45 a	5,90 b	2,17 b	7,30 b
NP	1,44 a	1,97 a	1,48 a	1,35 a	1,42 a	1,98 a	1,58 a	1,80 a	1,48 a	1,90 a
INIVIT	1,38 a	1,98 a	1,45 a	1,60 a	1,32 a	1,95 a	1,50 a	2,61 a	1,41 a	2,07 a
IITA	4,65 c	12,10 c	2,47 b	2,90 b	2,87 a	18,72 c	2,35 b	12,92 c	3,09 c	11,66 c
Medias de los cultivares	2,69 b	7,11 c	1,78 a	2,07 a	1,97 a	7,56 c	1,72 a	5,53 b		

Leyenda: 8S, Medio de cultivo de conservación del CIAT (CIAT. 1984); NP, Medio de crecimiento mínimo (NP) (Mafla *et al*., 2000); INIVIT, Medio de crecimiento mínimo (INIVIT) (Rayas *et al.*, 2002), IITA, Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007).
*Letras diferentes en la misma columna difieren para p≤0.05, según test de Bonferroni.

A los seis meses se pudo apreciar una mejor diferenciación de los explantes en conservación, con formación de plantas completas. Se observó el más lento crecimiento en el medio de cultivo NP (Mafla *et al.,* 2000) y el medio de cultivo por recomendado por Rayas *et al*. (2002), pero este último con más alta supervivencia del explante.
Después de 11 meses de conservación (Tabla 3) se pudo constatar que aunque en los cuatro medios de cultivo estudiados se mantuvo viabilidad del explante, es en el utilizado en la conservación *in vitro* en el INIVIT donde se observó mayor supervivencia (76,12), con diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos, incluso en el medio de cultivo NP del cultivar 'Crema – 1', murieron todos los explantes antes de los 11 meses, este cultivar mostró ser muy recalcitrante al cultivo *in vitro*, por lo que quizás sería

conveniente conservarlo en medio de cultivo de crecimiento. Esto evidencia el efecto del genotipo al estudiar la conservación *in vitro* de los recursos genéticos.
Los resultados no coinciden con lo descrito por investigadores del CIAT en Colombia (Aranzales, 2016), quienes mantienen la colección en el medio de cultivo NP durante 24 meses, mientras que en nuestras condiciones a los seis meses solo se obtuvo 55.32% de supervivencia. Esto puede estar relacionado con la incubación en un cuarto de conservación a temperatura entre 23 y 24ºC, mientras en los laboratorios del INIVIT la temperatura de incubación es 26± 2ºC, igual al cuarto de crecimiento. Lo que corrobora que cada laboratorio debe determinar sus condiciones de cultivo, en correspondencia con las condiciones del local.
La limitación del crecimiento por efecto de la concentración osmótica se debe a la reducción de la absorción de agua y nutrientes del medio de cultivo (García *et al*., 2007). El medio de cultivo recomendado contiene mayor concentración de sacarosa que el resto de los estudiados, ya que la sacarosa al ser altamente metabolizable, en concentraciones elevadas, puede actuar como agente osmótico (Ramírez *et al.,* 2012).
La conservación *in vitro* tiene como objetivos incrementar la longevidad *in vitro* de los cultivos sin que se produzcan cambios genéticos, por tanto, no hay una detención total de los procesos celulares sino una disminución en la velocidad en que ocurren los mismos y para reducir la frecuencia de transferencia de las plantas a medio de cultivo fresco (Bonilla *et al.,* 2015).

Tabla 3. Efecto del medio de cultivo sobre el porcentaje de supervivencia de los explantes conservados durante 11 meses en los medios de cultivo en estudio.

Cultivar Tratamiento	‘CMC – 76’	‘Crema -1’	‘INIVIT Y 93-4’	‘Clon 14’	Media
8S	50,00	23,07	78,00	40,00	47,76 c
NP	30,00	0	97,00	57,00	48,71 c
INIVIT, 2002	82,50	51,51	93,00	77,50	**76,12 a**
IITA, 2007	80,00	7,00	96,00	45,00	57,00 b

Leyenda: 8S, Medio de cultivo de conservación del CIAT (CIAT. 1984); NP, Medio de crecimiento mínimo (NP) (Mafla *et al*., 2000); INIVIT, Medio de crecimiento mínimo (INIVIT) (Rayas *et al.*, 2002), IITA, Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007). *Letras diferentes en la misma columna difieren para p≤0.05, según test de Tukey.

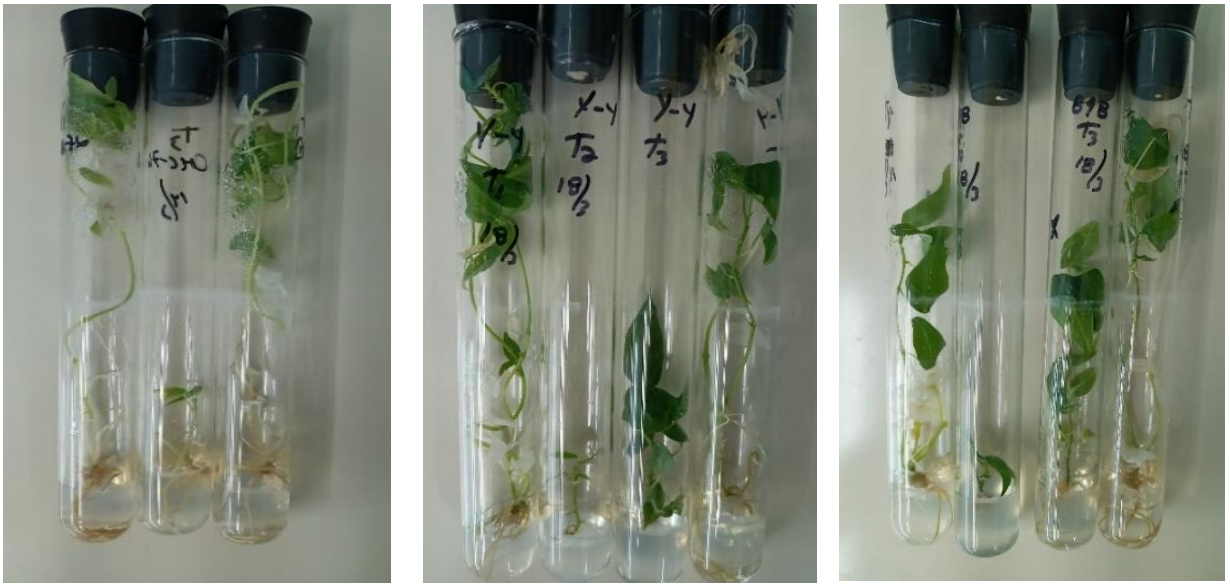
Al evaluar la altura del explante (Tabla 4) se observó que en los medios de cultivo 8S e IITA, el crecimiento no es lento, ocurre elongación de las plántulas con entrenudos muy largos y a los 10 meses las plántulas comienzan a morir.
En cuanto al número de hojas abiertas se apreció que al utilizar el medio de cultivo INIVIT se observó el mayor valor sin diferencias con los medios de cultivo 8S e IITA y si con el medio de cultivo NP, en el caso de los cultivares solo existen diferencias estadísticas con el cultivar ‘Crema – 1’.

Tabla 4. Efecto del medio de cultivo sobre la altura, número de hojas abiertas y número de yemas de cuatro cultivares de yuca para la conservación *in vitro* a los 11 meses.

Cultivares / Tratamientos	'CMC – 76'	'Crema -1'	'INIVIT Y 93-4'	'Clon 14'	Media de los tratamientos
Altura					
8S	14,00	6,50	12,10	10,65	10,81 b
NP	3,06	0	4,70	3,36	2,78 a
INIVIT, 2002	2,54	3,25	4,40	6,65	4,18 a
IITA, 2007	13,30	4,65	23,20	21,60	15,68 c
Media de los cultivares	8,22 b	3,60 c	11,10 a	10,54 a	
Número de hojas abiertas					
8S	5,90	4,00	4,60	5,30	4,95 a
NP	1,20	0	5,10	3,20	2,37 b
INIVIT, 2002	5,90	3,30	4,70	6,10	5,00 a
IITA, 2007	6,50	3,30	4,60	4,90	4,82 a
Media de los cultivares	4,87 a	2,65 b	4,75 a	4,87 a	
Número de yemas					
8S	6,20	3,00	6,50	6,00	5,42 a
NP	1,20	0	2,40	1,40	1,25 d
INIVIT, 2002	6,70	1,60	2,70	4,40	3,72 c
IITA, 2007	4,70	1,60	5,70	6,80	4,70 b
Media de los cultivares	4,57 a	1,55 b	4,32 a	4,65 a	

Leyenda: 8S, Medio de cultivo de conservación del CIAT (CIAT. 1984); NP, Medio de crecimiento mínimo (Mafla *et al*., 2000); INIVIT, Medio de crecimiento mínimo (Rayas *et al.*, 2002), IITA, Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007). *Letras diferentes en la misma columna difieren para p≤0.05, según test de Tukey.

En el número de yemas formadas en los tratamientos se pudo apreciar que en los medios de cultivo 8S e IITA, donde se alcanzaron los más altos valores en la altura, aunque formaron el mayor número de yemas no constituyen valores significativos, esto se debe a que ocurrió una elongación y los entrenudos fueron muy largos, provocando el crecimiento exuberante de las plántulas que comenzaron a sufrir senescencia foliar (Figura 1).



T1 T3 T4 Cv. 'CMC-76' | T1 T2 T3 T4 'INIVIT Y 93-4' | T1 T2 T3 T4 'Clon 14'

Leyenda: T1. 8S, Medio de cultivo de conservación del CIAT (CIAT. 1984); T2. NP, Medio de crecimiento mínimo (Mafla *et al*., 2000); T3. INIVIT, Medio de crecimiento mínimo (Rayas *et al.*, 2002), T4. IITA, Medio de crecimiento mínimo (IITA, 2007)

Figura 1. Plantas conservadas *in vitro* de tres cultivares de yuca en los medios de cultivo de crecimiento mínimo estudiados a los 11 meses de cultivo.

Todos los explantes conservados, después de colocados en medio de cultivo de crecimiento formaron plantas completas, listas para su aclimatización (Tabla 5, Figura 2).

Tabla 5. Efecto de los medios de cultivo de conservación en el restablecimiento en medio de cultivo de crecimiento.

Cultivar / **Tratamiento**	**'CMC-76'**	**'Crema-1'**	**'INIVIT Y 93-4'**	**'Clon 14'**
	% de recuperación (Número de explantes)			
8S	100 (24)	100 (24)	100 (24)	100 (24)
NP	100 (24)	0	100 (14)	100 (23)
INIVIT, 2002	100 (24)	100 (13)	100 (24)	100 (17)
IITA, 2007	100 (24)	100 (11)	100 (24)	100 (24)



Figura 2. Formación de plantas completas *in vitro*, a partir de explantes conservados en medio de cultivo de crecimiento mínimo

Los resultados corroboraron la necesidad de estudiar los medios de cultivo a utilizar en cada laboratorio y permitieron reafirmar que el utilizado permite la conservación durante 10 meses aproximadamente, dependiendo más de los genotipos.

CONCLUSIONES

- Se determinó que el medio de cultivo de crecimiento mínimo para yuca (*Manihot esculenta* Crantz) constituido por el 100 % de las sales y vitaminas recomendadas por Murashige y Skoog (1962), 40 $g.L^{-1}$ de sacarosa, 0,02 mg L^{-1} de 6-bencil aminopurina, 0,1 mg L^{-1} de ácido giberélico y 0,01 mg L^{-1} de ácido naphtalen acético, permite la conservación in vitro por 10 meses.
- Las plantas conservadas *in vitro* de todos los cultivares se recuperaron satisfactoriamente y no se observaron cambios morfológicos en condiciones de campo después de la conservación.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, MARÍA DE LOS ÁNGELES. 2019. Establecimiento *in vitro* de *Manihot esculenta* (yuca) mediante la técnica de aislamiento de meristemo, utilizando mezcla de los fitorreguladores: 6-bencilaminopurina (6-BAP) y ácido naftalenacético (ANA). Trabajo de grado para optar por el título de licenciada en biología. Departamento de

Biología. Facultad Multidisciplinaria de Occidente. Universidad de El Salvador. El Salvador. 69 pp.

AIGHEWI, B.A., R. ASIEDU, N. MAROYA AND M. BALOGUN. 2015. Improved propagation methods to raise the productivity of yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). Food Sec. 7:823-834. http://doi:10.1007/s12571-015-0481-6.

ARANZALES RONDON, E. 2016. Conservación *in vitro* de germoplasma de yuca. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Colombia. 23 p

BEOVIDES Y., MILIÁN, M., COTO, O., RAYAS, A., BASAIL, M., SANTOS, A. 2014. Caracterización morfológica y agronómica de cultivares cubanos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Cultivos Tropicales, 35*(2): 43-50.

BLAGBROUGH, I.S.; BAYOUMI S, ROWAN MG, BEECHING JR. 2010. Cassava: an appraisal of its phytochemistry and its biotechnology. *Phytochemistry* 71(17-18):1940-51. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.09.001.

BONILLA, M. M., MANCIPE C. Y AGUIRRE MORALES, A.C. 2015. Conservación *in vitro*: una perspectiva para el manejo de los recursos fitogenéticos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 6(1): 67-81.

CIAT. 1984. El cultivo de meristemas para la conservación de germoplasma de yuca *in vitro*. Guía de estudio. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 41pp.

COROZO, L., E. HÉCTOR, F. MACÍAS, B. VÁSQUEZ, B. PINARGOTE, G. COBEÑA, A. MENDOZA Y F. ARTEAGA, 2020. Micropropagación de dos variedades ecuatorianas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia* 36(3):224. https://doi.10.29393/CHJAAS36-21MDLC80022.

DÍAZ, L.C., O.E. CARMONA, Y J.D. BELTRÁN. 2015. Optimización de la conservación *in vitro* de germoplasma de *Dioscorea* spp por crecimiento mínimo. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 17(1):32-39. https://doi:10.15446/rev.colom.biote.v17n1.50842.

EGUILUZ, A., R. PINEDO Y C. FIGUEROA. 2019. Physiological and Agronomic Characterisation of Six Cassava Clones (*Manihot esculenta* Crantz). *Peruvian Journal of Agronomy*, 3(3): 120-125. DOI: https://doi.10.21704/pja.v3i3.1209.

FAOSTAT. 2022. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Cultivos y productos de ganadería. http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize.

GARCÉS, J. Y ROSARIO, Y. 2020. Estrategias de marketing para la internacionalización de la harina de yuca del departamento de Córdoba. Montería: Universidad de Córdoba.

GARCÍA, L., M. FERIA Y K. ACOSTA. 2007. Aspectos básicos de la conservación *in vitro* de germoplasma vegetal. *Biotecnología Vegetal*, 7(2): 67-79.

GUTIERREZ, N., A. OJEDA, C. CASTILLO, V. GONZALES. L. CASTRO y R. BLANCO. 2017. Genética del cultivo de yuca (*Manihot esculenta* Crantz.). Curso de Genética Agrícola. Programa de Ingeniería Agronómica. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. https://www.researchgate.net/publication /320597222.

IITA. 2007. Cassava *in vitro* processing and gene banking. IITA *Genebank series* 2007

KOEFENDER, J., D.P. GOLLE, C.E. MANFIO, R.C. HORN, A. SCHOFFEL, J.A.R. DE OLIVEIRA Y J.N. CAMERA. 2018. Caracterización morfológica y agronómica de accesos en yuca en la región noroeste del Río Grande do Sul, Brasil. *Holos* 34(6): 2-15. https://doi.org/10.15628/holos.2018.7747.

MAFLA, G. J.C. ROA and C.L. GUEVARA. 2000. Advances on the *in vitro* growth control of cassava, using silver nitrate. In: ´Cassava Biotechnology, Carvalho, L., Thro, A.M.,

Vilarinhos, A. D. (eds.), Empresas Brasileiras de Pesquisa Agropecuaria, Brasilia, Brasil, pp. 439 - 446.

MÁRQUEZ, M.S. 2013. Conservación *in vitro* bajo condiciones de crecimiento lento y estabilidad genética de crisantemo (*Dendranthema grandiflorum* Kitam.). Tesis presentada en opción al grado científico de Maestro en Ciencias en Biotecnología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 46pp

MEDERO, V. 2006. Embriogénesis Somática en Yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. 101 p.

MEDERO, V., R. FILIPIA, S. RODRÍGUEZ S.; M. BASAIL, A. SANTOS, A. RAYAS, J. LÓPEZ, I. ARREDONDO, J.R. PINO, M. MARTÍNEZ, M. TORRES, M.; Y. BRAVO, Y C. PONS. 2015. Producción de material de plantación de alta calidad genética y fitosanitaria en yuca. *Rev. Agricultura Tropical 1(1): 22-32, 2015 RNPS: 2397 (Versión electrónica)*

MONTEROS-ALTAMIRANO, A., M. TACÁN, G. PEÑA, C. TAPIA, N. PAREDES, L. LIMA. 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.

MURASHIGE, T. and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3):473-497. https://doi//10.1111 › j.1399-3054.1962.tb08052.x.

PEPRAH, B.B., A. AGYEMAN, E.Y. PARKES, O. KWADWO, I.K. ASANTE, E. OKOGBENIN and M.T. LABUSCHAGNE. 2016. Stability, agronomic performance and genetic variability of 10 cassava genotypes in Ghana. *J. Plant Breed. Crop Sci*., 8(9): 157-167. https://doi//10.5897/JPBCS2016.0581.

PÉREZ, D., R. MORA y C. LÓPEZ-CARRASCAL C. 2019. Conservación de la diversidad de yuca en los sistemas tradicionales de cultivo de la Amazonía. Acta biol. Colomb. 24(2):202-212. DOI: http://dx.doi.org/10.15446/abc.v24n2.75428.

RAMÍREZ, H., M. GUEVARA, y R. ESCOBAR. 2012. Cultivo de tejidos vegetales, conceptos y prácticas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Editorial Feriva S.A, Cali, Colombia. 227 pp.

RAYAS, A., V. MEDEROS, M. GARCÍA, J. LÓPEZ, M. CABRERA, J. VENTURA, M. MARTÍNEZ, V. GUTIÉRREZ, M. ALVAREZ y M. BAUTA. 2002. Estudio de medios de cultivo para la conservación in vitro de la yuca. *Biotecnología vegetal,* 2(4): 249-251.

VIEIRA E.A.; J. DE FREITAS; F. GELAPE; G. BELLON; K.G. DA FONSECA; L.J.C.B. CARVALHO; M. SANTOS; S. VIEIRA; M.O. SAMPAIO Y K. NASCIMENTO. 2008. Genetic divergence among sugary and nonsugary cassava accessions. *Pesquisa Agropecuaria Brasieleira* 43(12):23-29. DOI: http://doi:10.13140/RG.2.2.15498.98246.