Rev. Agricultura Tropical Vol. 2 No. 1:41-51, 2016
RNPS: 2397 (Versión electrónica)

CONSERVACIÓN *IN VITRO* DE BONIATO (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) CV. 'CAUTILLO'

Aymé Rayas Cabrera*, Diasnerys Arce Díaz, Arletys Santos Pino, Milagros Basail Pérez, Jorge López Torres, Víctor Medero Vega y Maricel Bauta Toledo.
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

RESUMEN
La biotecnología brinda grandes posibilidades para el manejo y utilización de los recursos genéticos de plantas, facilita la colección, introducción, conservación *in vitro*, multiplicación, caracterización y distribución del germoplasma; además de incrementar la disponibilidad de variabilidad genética necesaria en el fitomejoramiento. En el cultivo del boniato no se dispone actualmente de un protocolo que permita conservar las más de 600 accesiones que existen en la colección de campo custodiada por el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), por lo que resulta de vital importancia determinar los medios de cultivo de crecimiento mínimo que permitan mantener estas colecciones durante períodos mayores de seis meses para facilitar su manejo. El presente trabajo se realizó con el objetivo de definir la concentración de sorbitol y la temperatura de incubación para la conservación a mediano plazo del germoplasma de boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Se determinó que el medio "MS", suplementado con 20 $g.l^{-1}$ de glucosa y 20 $g.l^{-1}$ de sorbitol, resultó la mejor variante para la conservación *in vitro*. Al estudiar el efecto de la disminución de la temperatura se apreció que a 18±2ºC se logró un 73,4% de supervivencia. Finalmente, los resultados de la caracterización morfológica de la accesión después de la conservación demostraron la estabilidad fenotípica de los mismos.
Palabras clave: crecimiento mínimo, recursos genéticos, sorbitol.

IN VITRO CONSERVATION OF SWEET POTATO (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) CV. 'CAUTILLO'

ABSTRACT
Biotechnology offers great potential for management and utilization of plant genetic resources facilitates collection, introduction, *in vitro* conservation, multiplication, characterization and distribution of germplasm; and increases the availability of necessary genetic variability for plant breeding. In sweet potato crop, there is no currently available protocol to preserve more than 600 accessions that exist in the field collection at the Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), so it is vital to determine minimal growth media to maintain these collections for periods longer than six months to facilitate management. In order to define the concentration of sorbitol and incubation temperature for the medium-term conservation of germplasm of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), this work was performed. The "MS" medium supplemented with 20$g.l^{-1}$ glucose and sorbitol 20$g.L^{-1}$, resulted the best variant for in vitro conservation. In the study of temperature decrease effect, 73,4% survival was achieved with 18±2°C. Finally, the results of morphological characterization of materials after conservation showed phenotypic stability.

Keywords: minimal growth, genetic resources, sorbitol.

INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos constituyen una importante fuente de diversidad, generan nuevos productos y/o servicios agropecuarios, y se definen como aquellos materiales vegetales de uso actual o potencial en beneficio de la humanidad (Cubillos, 1994). Su conservación ha adquirido relevancia en las últimas décadas, no sólo por la erosión que conlleva a la pérdida o disminución de la diversidad genética sino también por el valor potencial que poseen. 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).

La estrategia a seguir para la conservación de germoplasma depende de la naturaleza del material vegetal y está definida por la duración de su ciclo de vida, el modo de reproducción y el tamaño de sus individuos. De acuerdo con estas características se ha intentado utilizar alternativas de conservación, que van desde el tradicional banco de semillas hasta el mantenimiento de áreas de reserva, sin embargo, los recursos genéticos están expuestos a plagas, enfermedades, sequía, daños climatológicos y errores humanos; no se encuentran en condición propicia para el intercambio de germoplasma, debido a los riesgos de transmisión de enfermedades a través del intercambio de material vegetativo. Adicionalmente, tiene un alto costo de mantenimiento, se requieren el uso de grandes extensiones de tierra y son muy laboriosos (Rao, 2004; Engelmann y González-Arnao, 2013).

A la luz de los problemas antes descritos se han buscado estrategias alternativas de conservación, en ésta área, la biotecnología provee herramientas para la conservación *in vitro* a través de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales, con las cuales es posible conservar, plantas completas, meristemos, semillas, embriones somáticos, embriones cigóticos, hojas, tallos, raíces, yemas, polen, anteras, callos o protoplastos (Márquez, 2013).

El control de la temperatura combinado con la disminución de la intensidad de la luz es otra de las formas más utilizados para lograr un crecimiento reducido de los cultivos *in vitro* (Sánchez-Chiang y Jiménez, 2010).

El crecimiento mínimo o reducido se basa en la disminución de la división celular y el metabolismo, con el objetivo de incrementar la longevidad *in vitro* de los cultivos y disminuir al mínimo las posibilidades de cambios genéticos, manteniéndolos bajo condiciones de mínimo crecimiento por lo que no hay una total detención de los procesos celulares sino una disminución de los mismos, con lo cual se reduce la frecuencia de transferencia de los explantes a medio de cultivo fresco (Roca*,* 1994).

En la Unidad de Conservación *in vitro* del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT) no se dispone actualmente de un protocolo que permita conservar las más de 600 accesiones de boniato que existen en la colección de campo, por lo que el objetivo de la presente investigación fue definir la concentración de sorbitol en el medio de cultivo y la temperatura de incubación, para la conservación a mediano plazo del cv. de boniato ‘Cautillo’.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), durante el período comprendido de noviembre 2011 a octubre 2012.

Para el establecimiento *in vitro* se seleccionaron en campo 15 raíces tuberosas de plantas con buen estado fitosanitario del cultivar 'Cautillo'. Estos se lavaron con agua corriente y se colocaron en frascos con agua, sumergidos aproximadamente un tercio de la misma (Love *et al.,* 1987), las que se colocaron en casa de cristal bajo condiciones semicontroladas de iluminación. Transcurridos 15 días se procedió a la toma de las hojas para el diagnóstico de enfermedades virales que afectan el cultivo (grupo de los *potyvirus*), a partir de las plantas sanas se tomaron las yemas para el establecimiento *in vitro.* Para el proceso de desinfección se cortaron los brotes de 10 a 20 cm de longitud, se eliminaron las hojas y se dejó una sección de pecíolo. Estos tallos se cortaron en segmentos de entre dos y tres centímetros conteniendo una yema terminal o axilar, los que se lavaron con agua y detergente tres o cuatro veces y finalmente se realizó la desinfección con hipoclorito de sodio al 2,5% durante 10 minutos (López *et al*., 1995).

Las condiciones de cultivo fueron: temperatura 27 $\pm$ 2°C y fotoperíodo de 16 horas de luz.

En los experimentos se aplicó un diseño completamente aleatorizado por entender homogéneas las condiciones de cultivo dentro de las cámaras y considerar como única fuente de variación los tratamientos.

Para el procesamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS ver. 15.0 para *Windows*, en cada experimento se detallan las pruebas realizadas.

Para la implantación *in vitro* se utilizaron como explantes, meristemos de uno o dos primordios foliares, en un medio de cultivo que contenía las sales Murashige y Skoog (MS) (1962), Tiamina (2 $mg.l^{-1}$), 6 – Bencilaminopurina (6-BAP) (0,3 $mg.l^{-1}$), Acido Naftalen acético (ANA) (0,03 $mg.l^{-1}$) y 50 $g.l^{-1}$ de sacarosa.

En todos los experimentos se utilizó como medio de cultivo basal las sales inorgánicas MS (1962) modificadas por Chée *et al*. (1992) solidificado con 2 $g.l^{-1}$ de *Gelrite*.

Los análisis de diagnóstico se realizaron en el INIVIT, a partir del banco de donantes de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Las 15 plantas mantenidas en el aislador de patógenos se evaluaron por la técnica de Inmunoensayo Ligado a Enzima a partir del kit (*Antigen Coated Plate ELISA for Potyvirus Group*) (*Sweet potato feathery mottle virus, Sweet potato latent virus, Sweet potato mild mottle virus*), de la casa comercial AGDIA y el lector de placas BIO-TEC ELx-800. El programa utilizado para la lectura y clasificación de las muestras fue el KCjunior de BIO-TEC. La calibración de los filtros del lector de placas se realizó a través del programa KCjunior.

Las muestras se prepararon por el método de Clarificado Viral Concentrado (CVC) (Christie y Edwarson, 1987). La metodología de diagnóstico fue el esquema ELISA-indirecto (según protocolo del fabricante). Las lecturas se realizaron en el lector de placas a 405 nm. Se tomaron tres lecturas con la secuencia, 15 minutos, 30 minutos y una hora. La selección de la más eficiente se realizó a partir de la mayor diferenciación entre los valores medios de absorbancia de los controles positivos con relación a los negativos. Se desestimaron placas con valores de absorbancia de los controles negativos superiores a 0,20. Fueron desestimadas las muestras cuyas

lecturas de valores de absorbancia difirieron en número superior a 0,05. El criterio de selección de positivos (*cut off*) fue a partir del doble de la media de los valores de absorbancia de los controles negativos.

Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol en la conservación *in vitro* del cv. 'Cautillo'

Para la conservación *in vitro* se realizó un estudio sobre diferentes concentraciones de sorbitol, se utilizó como control el medio de cultivo recomendado para la multiplicación del boniato (López *et al*., 1995).

M1. MS; tiamina (2 $mg.l^{-1}$); mioinositol (100 $mg.l^{-1}$); sacarosa (50 $g.l^{-1}$). Control
M2. MS; tiamina (2 $mg.l^{-1}$); mioinositol (100 $mg.l^{-1}$); glucosa (20 $g.l^{-1}$); sorbitol (10 $g.l^{-1}$).
M3. MS; tiamina (2 $mg.l^{-1}$); mioinositol (100 $mg.l^{-1}$); glucosa (20 $g.l^{-1}$); sorbitol (20 $g.l^{-1}$).
M4. MS; tiamina (2 $mg.l^{-1}$); mioinositol (100 $mg.l^{-1}$); glucosa (20 $g.l^{-1}$); sorbitol (30 $g.l^{-1}$).

A los nueve meses se evaluó: supervivencia; altura (cm); entrenudos.$planta^{-1}$; tallos.$planta^{-1}$; hojas activas; hojas muertas; raíces activas y raíces muertas.

Los datos se procesaron estadísticamente mediante análisis de varianza de clasificación simple (completamente al azar) y la comparación múltiple de media se realizó según Tukey cuando se encontró homogeneidad de varianza, en los casos contrarios se aplicó Kruskall Wallis con un nivel de significación de $p<0,05$.

Efecto de la temperatura de incubación en la conservación *in vitro* del boniato

Para estudiar la influencia de la temperatura de cultivo en la conservación de las plantas *in vitro* se utilizaron segmentos nodales cultivados en el medio de cultivo basal, constituido por las sales MS (1962), tiamina (2 $mg.l^{-1}$), mioinositol (100 $mg.l^{-1}$) y sacarosa (50 $g.l^{-1}$).

Las temperaturas de cultivo estudiadas fueron 12, 18 y 25 ±2°C, para lo cual se colocaron las plantas en cámaras climatizadas (Modelo RUMED), con un fotoperíodo de 16 horas luz e intensidad luminosa de 30 $\mu molm^{-2}s^{-1}$. Las evaluaciones se realizaron a los nueve meses y se determinó el porcentaje de supervivencia de las plantas conservadas *in vitro*, número de yemas por planta, número de raíces por planta y longitud (cm).

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza de clasificación simple (completamente al azar) y la comparación múltiple de media se realizó según Tukey cuando se encontró homogeneidad de varianza, con un nivel de significación de $p<0,05$, en los casos contrarios se aplicó Kruskall Wallis.

Caracterización morfológica en campo de las plantas conservadas *in vitro*

Las plantas conservadas *in vitro* fueron transferidas a medio de cultivo constituido por las sales de Murashige y Skoog (1962), tiamina (2 $mg.l^{-1}$), mioinositol (100 $mg.l^{-1}$) y sacarosa (50 $g.l^{-1}$).

Cuando se dispuso de suficiente material vegetal se enraizaron y aclimatizaron, posteriormente fueron plantadas en condiciones de campo en un suelo Pardo mullido carbonatado (Hernández *et al.*, 1999).

Las atenciones culturales fueron seguidas según Instructivo técnico para la producción de semillas de viandas (INIVIT, 2012).

Se realizó la caracterización mediante 23 descriptores mínimos recomendados en la lista de descriptores publicada para la especie *I. batatas (L.) Lam.)* (Huaman, 1992; Sánchez *et al.*, 1997) con la finalidad de evaluar su estabilidad fenotípica.

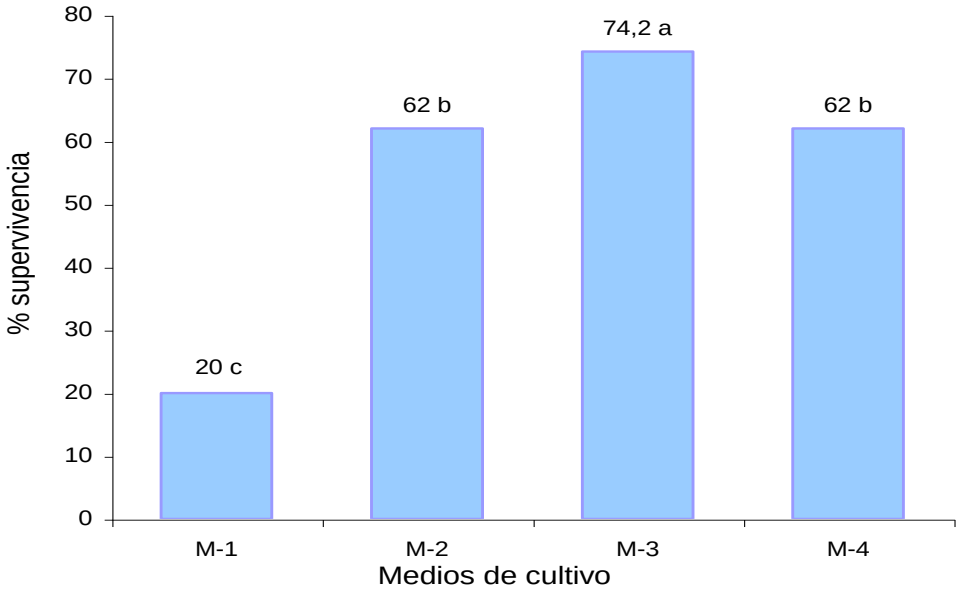
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagnóstico del material a introducir

Todas las plantas donantes se diagnosticaron como sanas y fueron liberadas para su establecimiento *in vitro*.

Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol en la conservación *in vitro* del boniato

En este estudio aunque existieron diferencias entre los tratamientos se puede apreciar que en los tres medios de cultivo fueron superiores al 60%, aunque en el medio de cultivo suplementado con 20 $g.l^{-1}$ de sorbitol (M3) se observó mayor supervivencia (74,2%) de los (fig. 1), resultados que coinciden con los encontrados por Espinosa *et al*. (2003) quienes proponen entre los criterios a tener en cuenta al decidir la validez de una metodología para la conservación *in vitro* de especies vegetales, la supervivencia y recuperación del material vegetal conservado.



Rangos medios con letras no comunes difieren según prueba no paramétrica de Kruskall Wallis para p<0,05.

Leyenda:

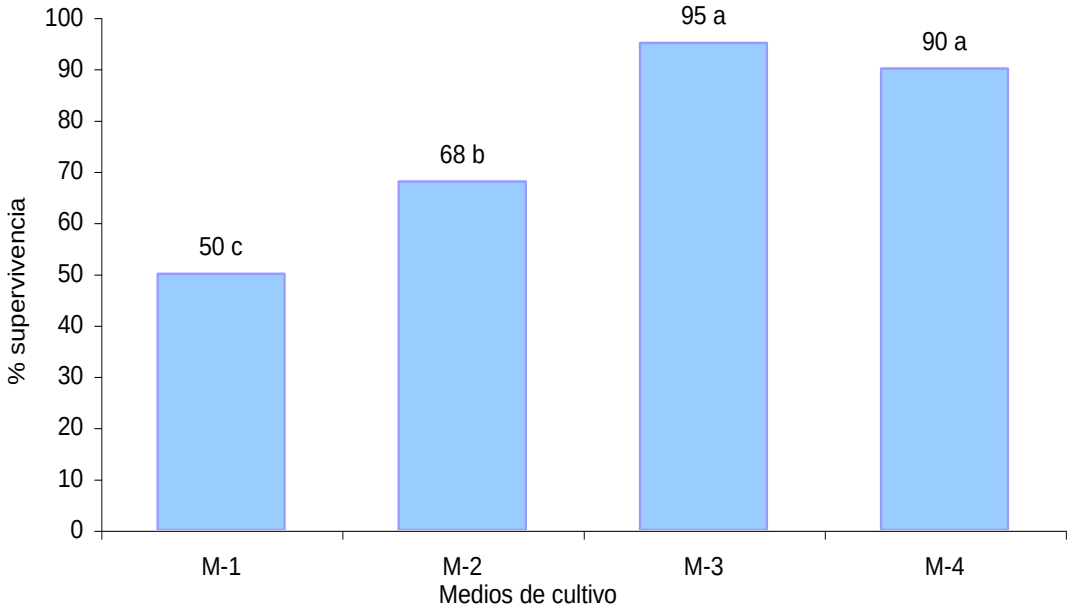
M1. MS+ tiamina (2 $mg.l^{-1}$) + mio-inositol (100 $mg.l^{-1}$) + sacarosa (50 $g.l^{-1}$) Control
M2. MS+ tiamina (2 $mg.l^{-1}$) + mio-inositol (100 $mg.l^{-1}$) + glucosa (20 $g.l^{-1}$) + sorbitol (10 $g.l^{-1}$).
M3. MS+ tiamina (2 $mg.l^{-1}$) + mio-inositol (100 $mg.l^{-1}$) + glucosa (20 $g.l^{-1}$) + sorbitol (20 $g.l^{-1}$).
M4. MS+ tiamina (2 $mg.l^{-1}$) + mio-inositol (100 $mg.l^{-1}$) + glucosa (20 $g.l^{-1}$) + sorbitol (30 $g.l^{-1}$).

Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol sobre el porcentaje de supervivencia de los explantes.

En la conservación *in vitro* de la papa, Castillo *et al.* (2008) han estudiado diferentes sustancias retardadoras del crecimiento de las plantas *in vitro* (manitol, sorbitol y ácido

acetil salicílico) y recomiendan el uso del sorbitol a 40 g.l^{-1} en los medios de cultivo para la conservación a mediano plazo de este cultivo.

Al analizar la recuperación del material conservado, también fue evidente la superioridad del medio de conservación con 20 g.l^{-1} de sorbitol, con el cual se obtuvo un 95% de recuperación del material conservado (fig. 2), resultados que coinciden con los obtenidos por Lizárraga *et al.* (1998).



Rangos medios con letras no comunes difieren según prueba no paramétrica de Kruskall Wallis para p<0,05.

Leyenda:

M1. MS+ tiamina (2 mg.l^{-1}) + mio-inositol (100 mg.l^{-1}) + sacarosa (50 g.l^{-1}) Control
M2. MS+ tiamina (2 mg.l^{-1}) + mio-inositol (100 mg.l^{-1}) + glucosa (20 g.l^{-1}) + sorbitol (10 g.l^{-1}).
M3. MS+ tiamina (2 mg.l^{-1}) + mio-inositol (100 mg.l^{-1}) + glucosa (20 g.l^{-1}) + sorbitol (20 g.l^{-1}).
M4. MS+ tiamina (2 mg.l^{-1}) + mio-inositol (100 mg.l^{-1}) + glucosa (20 g.l^{-1}) + sorbitol (30 g.l^{-1}).

Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol sobre el porcentaje de recuperación del material conservado.

Al analizar el efecto de diferentes concentraciones de sorbitol en el medio de cultivo sobre la altura, se pudo apreciar que al combinar 20 g.l^{-1} de glucosa y 20 g.l^{-1} de sorbitol, se observó una reducción considerable (4,58 cm) con respecto al medio de cultivo utilizado como control (10,25 cm), con diferencias significativas (tabla 1).

En cuanto al número de entrenudos, variable que representa la posibilidad de mayor coeficiente de multiplicación en caso de necesitar multiplicar una accesión que se conserva *in vitro,* la mejor respuesta se obtuvo en el medio de cultivo utilizado como control con diferencias significativas con el resto y los tallos por planta no mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Tabla 1. Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol sobre la altura, número de entrenudos y tallos por planta en la conservación *in vitro* del boniato, a los nueve meses.

Medio de cultivo	Altura (cm)	Número de entrenudos	Tallos por planta
M1 (Control)	10,25 c	20,04 b	1,41 a
M2	6,58 b	10,08 a	1,29 a
M3	4,58 a	8,72 a	1,37 a
M4	6,50 b	9,02 a	1,41 a
ES ±	0,14**	0,09**	0,02 ns
CV (%)	10,30	13,40	15,24

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren estadísticamente para p<0,05 según prueba de Tukey.

El sorbitol aumenta la presión osmótica del medio de cultivo reduciendo así la disponibilidad de los nutrientes para la plántula. 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 (Acosta, 2005).

Coca *et al*. (2005) utilizaron 20 $g.l^{-1}$ de sorbitol, para la conservación *in vitro* de 60 especies de pasifloras andinas, donde obtuvieron retardo del crecimiento de las plantas, entrenudos cortos y yemas viables en el 60% de las especies. La totalidad de las plantas se mantuvieron verdes hasta alrededor del sexto mes de conservación.

Cortegaza *et al*. (2010), observaron la influencia del sorbitol también en la inducción de brotes axilares de *Saccharum officinarum* L, en el que este regulador osmótico proporcionó una relación inversa entre la altura y el número de brotes a favor de la supervivencia de los explantes.

En otros estudios con Manitol como regulador osmótico, en caña de azúcar (*Saccharum officinarum L*.), Cortegaza *et al.* (2010) encontraron que la altura del explante disminuyó a medida que aumentó la concentración del mismo en el medio de cultivo.

En el número de hojas activas se puede observar que fue superior (5,04) y altamente significativa en el tratamiento M3 con respecto a los demás tratamientos con una respuesta acorde al número de hojas muertas que fue el menor en este medio de cultivo, al igual que en las raíces activas (7,25), sin diferencias significativas con el medio de cultivo que contiene 10 $g.L^{-1}$ de sorbitol (7,16) (Tabla 2).

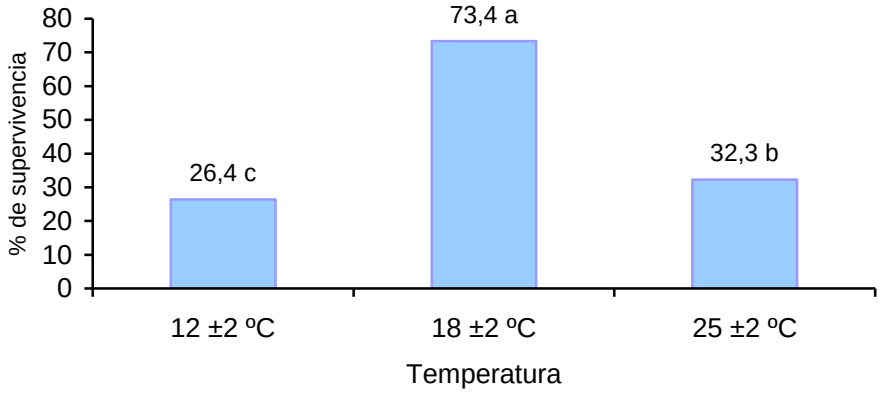
Tabla 2. Efecto de diferentes concentraciones de sorbitol en la conservación *in vitro* del boniato, a los nueve meses.

Medio de cultivo	Hojas activas	Hojas muertas	Raíces activas
M1 (Control)	0,87 c	13,33 c	5,04 c
M2	0,87 c	12,75 c	7,16 a
M3	5,04 a	3,62 a	7,25 a
M4	2,03 b	11,20 b	6,37 b
CV (%) =	21,40	10,97	9,67
ES ±	0,06**	0,07**	0,05**

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren estadísticamente para p<0,05 según prueba de Tukey.

Las plantas *in vitro* cuando se mantienen en medio de crecimiento mínimo, forman hojas pequeñas, característica que evidencia la presencia de condiciones idóneas para la conservación *in vitro.*
Alvarenga *et al*. (2007), trabajaron la sacarosa como regulador osmótico para la conservación in vitro del Chayote y encontraron que los brotes cultivados con 30 y 40 $g.l^{-1}$ mostraron los mayores incrementos en cuanto a peso fresco, pudieron verificar el efecto de la inhibición del crecimiento y el porcentaje de supervivencia.
En algunos casos se ha observado que la presencia de reguladores osmóticos como la sacarosa y el manitol, no determina el incremento de la supervivencia de las plantas conservadas, pero tampoco resultan perjudiciales y se aprecia una influencia en la altura y en el número de brotes de las mismas (García *et al*., 2004). Sin embargo, Lemos *et al*. (2002) han referido efectos nocivos asociados a este regulador osmótico durante la conservación *in vitro* de caña de azúcar.

Efecto de la temperatura de incubación en la conservación *in vitro* del boniato
Las bajas temperaturas para la conservación *in vitro* de germoplasma vegetal se han utilizado en numerosas especies de clima templado y tropical, sin embargo, estás últimas son muy sensibles a temperaturas menores de 15ºC, sufriendo daños irreversibles (Roca, 1985; Ashmore, 1997). La figura 3 muestra que la supervivencia del material conservado a 12±2°C fue baja, ya que el boniato ha sido referido como una especie sensible a temperaturas inferiores a 14°C cuando se almacena por periodos prolongados (Roca *et al*., 1993).
La supervivencia del material vegetal conservado a 25±2°C fue baja (32,3%), pues las plantas murieron antes de los nueve meses debido al alto ritmo de crecimiento y al no ser cultivadas en medio de cultivo fresco, sin embargo, cuando se incubaron a 18±2°C se obtuvo una supervivencia de 73,4%. Resultados similares obtuvieron Espinosa *et al*. (2003) al conservar cuatro clones de boniato, mientras que Jarret y Gawell (1991) lograron la conservación durante ocho meses de segmentos nodales de boniato a temperatura de 22°C.



Medias con letras no comunes en una misma columna difieren estadísticamente para p<0,05 según prueba de Kruskall Wallis

Figura 3. Efecto de la temperatura de incubación sobre la supervivencia de explantes de boniato cv. 'Cautillo', para su conservación *in vitro*.

En las variables de crecimiento se pudo apreciar que existieron diferencias entre los tratamientos, a 25 ±2 ºC las plantas mantuvieron su ritmo de crecimiento similar a cuando se encuentran en condiciones de crecimiento activo (27±2 ºC), con 7,32 yemas por planta; 4,23 raíces por planta y 7,56 cm de longitud, por lo que antes de los nueve meses comenzaron a morir, mientras que a 18±2 ºC mantuvieron un ritmo menor, y por tanto mayor supervivencia. Cuando se sometieron a 12±2 ºC, el crecimiento fue muy lento y el material vegetal murió a partir de los 6 meses (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la temperatura de incubación en conservación *in vitro* del boniato durante nueve meses.

Temperatura	Número de yemas por planta		Número de raíces por planta		Longitud (cm)
	Media	Media de rangos	Media	Media de rangos	
12 ±2 ºC	1,08	21,12 c	1,09	11,26 c	1,20 c
18 ±2 ºC	3,93	33,15 b	2,86	24,53 b	2,87 b
25 ±2 ºC	7,32	52,30 a	4,23	48,24 a	7,56 a
ES ±		1,18**		1,09**	0,12**

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren estadísticamente para p<0,05 según prueba de Kruskall Wallis y Tukey

Caracterización morfológica en campo de las plantas conservadas *in vitro*

Una vez regeneradas las plantas a partir de los explantes conservados se realizó la caracterización morfológica en campo de las plantas obtenidas y se verificó que todo el material vegetal presentó las características morfológicas propias del cultivar 'Cautillo', descritas en el Instructivo Técnico para la producción de semillas de viandas (INIVIT, 2012). Por lo que se infiere que el medio de cultivo de crecimiento mínimo utilizado no indujo variabilidad visible.

CONCLUSIONES

1. El medio de cultivo "MS" suplementado con 2 $mg.l^{-1}$ de tiamina, 100 $mg.l^{-1}$ de mioinositol, 20 $g.l^{-1}$ de glucosa y 20 $g.l^{-1}$ de sorbitol, posibilita la conservación *in vitro* del cv. de boniato 'Cautilllo'.
2. Con la disminución de la temperatura a 18±2ºC fue posible conservar las plantas con 73,4% de supervivencia durante nueve meses.
3. Las plantas conservadas *in vitro* se recuperaron satisfactoriamente y no se observaron cambios morfológicos en condiciones de campo.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, K.I. 2005. Conservación *in vitro* del híbrido 'IBP 42-99' de papaya (*Carica papaya* L.). Tesis presentada en opción al grado de Magíster Scientiae en Biotecnología Vegetal. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. 64 p.

ALVARENGA, S.; A. ABDELNOUR y V. VILLALOBOS. 2007. Conservación *in vitro* de Chayote. *Agronomía Mesoamericana*, 18(001): 65-73.

ASHMORE, S.E. 1997. Status report in the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Roma, Italia. 67p.

CASTILLO, J.G.; A. ESTÉVEZ; D. VARGAS; J.L. SALOMÓN y O. MORÉ. 2008. Una breve revisión de la conservación *ex situ* del germoplasma cubano de papa y de algunos resultados importantes utilizando técnicas moleculares. Consultado el 25 de nov. De 2011. Disponible en: http://www.redepapa.org/ germoplas-macubano.doc.

CHÉE, R.P.; J.R. SCHULTHEIS y D.J. CANTLIFFE. 1992. Micropropagation of Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) In: Bajaj, Y.P.S. (ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry,* 19:107-113.

CHRISTIE, R.G. and J.R. EDWARSON. 1987. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. *Fla. Agr. Exp. Stn. Mon. Sci,* (9): 155.

COCA, N.; T. ÁVILA y L. GUZMÁN. 2005. Conservación *in vitro* de pasifloras andinas. En*: Memorias del V Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe*. 23-25 de noviembre/2005, Montevideo, República Oriental del Uruguay.

CORTEGAZA, L.; O. SANTANA; M. MATOS; S. VIDAL; O. DIGO; P.L. CORTEGAZA y G. PÉREZ. 2010. Efecto del manitol en la conservación *in vitro* de formas originales de *Saccharum officinarum* L. Estación Prov. de Investigaciones de la Caña de Azúcar, Jovellanos, Matanzas. http://www.inica.minaz.cu/trabajos/40ANIVERSARIO/bio/ b44.htm.

CRUZ, N.; M. BRENES; A. ABDELNOUR y S. ALVARENGA. 2011. Establecimiento de un protocolo para la conservación *in vitro* a mediano plazo de uña de gato (*Uncaria Tomentosa* (Willd). D.C.). *Tecnología en Marcha,* 24(4): 19-29.

CUBILLOS, A. 1994. Recursos Fitogenéticos de la diversidad chilena: Una proposición de priorización para su preservación. *Simiente,* 11:59-62.

ESPINOSA, A.; O. GONZÁLEZ y J.J. SILVA. 2003. Conservación *in vitro* de clones de boniato en condiciones de crecimiento mínimo. *Biotecnología vegetal,* 3(1): 37-41.

GARCÍA, L.; J.N. PÉREZ; M. RODRÍGUEZ; B. PÉREZ; Y. MARTÍNEZ y Z. SARRÍA. 2004. Conservación *in vitro* de plantas de caña de azúcar. *Biotecnología Vegetal,* 4(2): 101-105.

HERNÁNDEZ, A.; J.M. PÉREZ; Y. JIMÉNEZ; D. BOSCH y L. RIVERO. 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Ciudad de La Habana: *AGRINFOR*, 64 p.

HUAMAN, Z. 1992. Identificación morfológica de duplicados en colecciones de *Ipomoea batatas*. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú, *Guía de Investigación* 36, CIP, 28 pp.

INIVIT. 2012. Instructivo Técnico para la producción de semilla de viandas. Editorial INIVIT, Villa Clara, Cuba, 162 p.

JARRET, R.L. y N. GAWELL. 1991. Chemical and environmental growth regulation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 25: 153-159.

LEMOS, E.E.; M. FERREIRA; L.M. CALHEIRO; C.E. RAMALHO y M. ALBURQUERQUE. 2002. Conservación *in vitro* de germoplasma de caña de azúcar. *Pesquisa Agropecuaria,* 47(10):1359-1364.

LIZÁRRAGA, R.; A. PANTA; U. JAYASINGHE and J.H. DODDS. 1998. Tissue Culture for Elimination of Pathogens. *CIP Research Guide* 3. International Potato Center. Lima. Perú. 21p.

LÓPEZ, J.; M. GARCÍA y V. MEDERO. 1995. Determinación de la procedencia y desinfección del explante para la micropropagación *in vitro* del boniato (*Ipomoea batatas* L.). Resúmenes X Forum de Ciencia y Técnica. Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales. Santo Domingo, Villa Clara. 12 p.

LOVE, S.L.; B.B. RHODES y L.W. MOYER. 1987. Meristem-tip culture and virus indexing of sweet potatoes. IBPGR Rome, 46 p.

MURASHIGE, T. y F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum,* 15:473-497.

RIVERO, M.V. 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. 80 p.

ROCA, W. 1985. El cultivo de tejidos para la conservación de los recursos genéticos *in vitro*. Consejo Internacional de Recursos Filogenéticos (CIRF). *Lecturas sobre Recursos Filogenéticos* 3. Cali, Colombia. 39p.

ROCA, W. 1994. Conservación de germoplasma de yuca *in vitro*. Principios y técnicas. CIAT, 63 p.

ROCA, W.; D.L. ARIAS y R. CHÁVEZ. 1993. Métodos de conservación *in vitro* de germoplasma. En: Roca WM. Cultivo de Tejidos en la Agricultura; Fundamento y Aplicaciones, pp. 697-727. CIAT. Cali, Colombia.

SÁNCHEZ, I; M. MILIÁN; M. CABRERA y A. MORALES. 1997. Listado de descriptores y descripción del germoplasma de *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Determinación de duplicados. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. 35 p.

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

ENGELMANN, F. y M.T. GONZÁLEZ-ARNAO. 2013. Introducción a la conservación *ex situ* de los recursos genéticos vegetales. In: Crioconservación de Plantas en América Latina y el Caribe. ENGELMANN, F. y M.T. GONZÁLEZ-ARNAO. (eds). San José, Costa Rica: IICA. pp. 26-35.

RAO, K.N. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology,* 3 (2): 136-145.