

# Aspectos logísticos de manejo y determinación de la estabilidad genética de materiales crioconservados de yuca (*Manihot esculenta* Crantz)



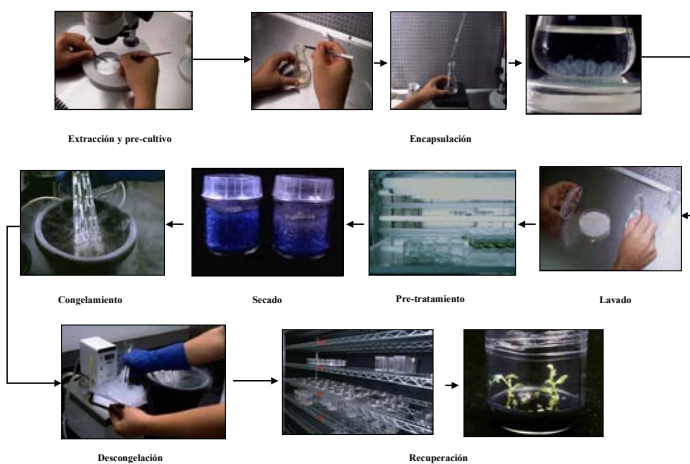
Roosevelt H. Escobar<sup>1</sup>, Norma Manrique<sup>1</sup>, Liliana Muñoz<sup>1</sup>, Auradela Ríos<sup>1</sup>, Gerardo Gallego<sup>1</sup>, Daniel Debouck<sup>2</sup>, Joe Tohme<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Proyecto de Agro biodiversidad y Biotecnología, <sup>2</sup>Unidad de Recursos Genéticos. CIAT, AA6713, Cali, Colombia

## INTRODUCCION

La crioconservación es una estrategia complementaria dentro del esquema de conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos de especies de propagación vegetativa o con semillas recalcitrantes. El establecimiento de un banco básico bajo condiciones de crioconservación, para la conservación a largo plazo de una colección de germoplasma, requiere del desarrollo, evaluación e implementación de una metodología de crioconservación aplicable al mayor número de accesiones de la colección.

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT se desarrolló una metodología de crioconservación de ápices de yuca usando la técnica de Encapsulación-Deshidratación, con la que se almacenó en nitrógeno líquido una copia de la colección núcleo de yuca *Manihot esculenta* Crantz (619 accesiones). Esta evaluación generó información valiosa para determinar: (1) la capacidad de rebrote después del congelamiento, (2) los aspectos logísticos a tener en cuenta para el establecimiento de un banco básico de la colección de yuca, y (3) analizar la estabilidad genética de los materiales crioconservados.

## MATERIALES Y METODOS



## RESULTADOS Y DISCUSION

1. Se considera como valor mínimo de respuesta en formación de brote un 30% después de la congelación. Con los datos obtenidos se puede concluir que la metodología es aplicable a la mayoría de los genotipos (66.4%) (Figura 1).

2. Se establecieron aspectos logísticos de manejo en la colección tales como: (a) 60-100 ápices/clon distribuidos en 6-10 viales; (b) cada vial con 10 unidades encapsuladas; (c) tejido joven mantenido en medio 4E (Roca 1984); (d) pre-tratamiento en medio suplementado con Kinetina por 3 días previos al inicio del proceso de Encapsulación.

3. Para el manejo de inventarios y seguimiento del material almacenado se desarrolló una base de datos escrita en MySQL que permite ubicar espacialmente cada uno de los tubos almacenados y hacer su respectiva anotación. Esta base de datos combina datos morfológicos, isoenzimáticos, ubicación espacial con datos de respuesta acumulada a la crioconservación en el tiempo.

4. Análisis de patrones morfológicos, isoenzimáticos y moleculares (mediante AFLP's) han sido desarrolladas para determinar la estabilidad genética en una muestra de los materiales almacenados. No se reportaron diferencias significativas entre los controles *in vitro* y el material congelado.

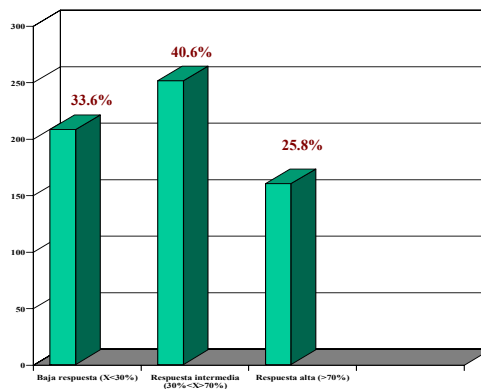


Figura 1: Número de clones y porcentaje de respuesta de formación de brotes después de la crioconservación en nitrógeno líquido usando el protocolo de Encapsulación-deshidratación desarrollado y ajustado en el CIAT. Total de material crioconservado = 619 clones



Figura 2: Detalle de la pantalla del programa de manejo CryoGen desarrollado para el manejo del Banco piloto crioconservado de yuca por Ants Webs.



Figura 3: (A) Comparación de los descriptores morfológicos en raíces de material crioconservado y control *in vitro* (B) Patrón electroforético obtenido mediante las isoenzimas  $\alpha$ - $\beta$ -Esterasas en hojas en material control de yuca. (I=*In vitro*) y congelados (C= Cryo).

## PERSPECTIVAS

(1) Implementación del protocolo de crioconservación en la colección total y establecer un duplicado de la colección (2) Establecer un protocolo alternativo de crioconservación para los materiales de baja respuesta.