

Latin America: Multi - Country capacity building for compliance with the Cartagena Protocol on Biosafety

Brazil - Colombia - Perú - Costa Rica



LINEA BASE PARA LA TOMA DE DECISIONES EN BIOSEGURIDAD: DESARROLLO DE UN MODELO PARA LA EVALUACION DE FLUJO DE GENES EN YUCA UTILIZANDO UNA LINEA ANDROESTERIL (*Manihot esculenta* Crantz).

Fory L.F, Pérez J.G., Duque S., Calle F., Morante N., Bolaños E, P. Herrera, Duque M., Ceballos H., Roca W., Gallego G y Tohme J. - Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. AA 6713, Cali. Colombia.

Con el convenio de diversidad biológica se pone de manifiesto la creación del protocolo de Cartagena, el cual se centra principalmente en la regulación, transferencia y manipulación de los OGM, estableciéndose de este modo pautas para la evaluación de riesgo de los organismos genéticamente modificados. La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un cultivo muy importante para América, Asia y África, varios laboratorios están trabajando con diferentes eventos de transformación a nivel experimental y versión del 70 % del genoma de yuca ha sido establecida recientemente (Prochnik et al., 2012). Ante una prominente liberación de yuca transgénica es necesario establecer los delineamientos básicos para evitar o minimizar el flujo de genes. El flujo de genes es un fenómeno natural en el cual ocurre un movimiento de la información de padres a hijos, en el caso de yuca la polinización es ayudada por la presencia de insectos y las características pueden transferirse a través del polen y la semilla, considerándose la semilla vegetativa como medio de propagación (Kawano, 1978; Álvarez y Daza, 1985). Altas tasa de cruzamiento han sido reportadas utilizando el color y forma del tallo (Kawano, 1978). Treinta metros son suficientes para evitar el flujo de polen y un perfecto aislamiento es obtenido a los 500 mts (Kawano, 1978; Álvarez y Daza, 1985). En la actualidad el programa de mejoramiento de yuca utiliza una distancia de 16 metros para evitar contaminación y se postulan la remoción de flores, eliminación de plantas antes de la floración y el cubrimiento de flores como métodos para evitar el flujo de polen (Halsey et al., 2008). El objetivo general de este proyecto es el fortalecimiento de la capacidad técnica mediante la generación de conocimiento para el desarrollo de guías o lineamientos en bioseguridad encaminados a la evaluación de riesgo de tipo ambiental. La información obtenida en esta investigación es necesaria para estudiar la dinámica de flujo e introgresión de genes entre la yuca y las especies compatibles del género *Manihot*, para construir estándares de aislamiento reproductivo. Esta información podrá contribuir en la toma de decisiones por autoridades competentes, poniendo a disposición información y herramientas clave para ayudar a implementar el Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad.

METODOLOGIA

1. Establecimiento de plantas in vitro y/o invernadero y trasplante a campo
2. Diseño bajo condiciones controladas (CIAT), utilizando el clon HMC1 como donador de polen y la línea androestéril como receptor.

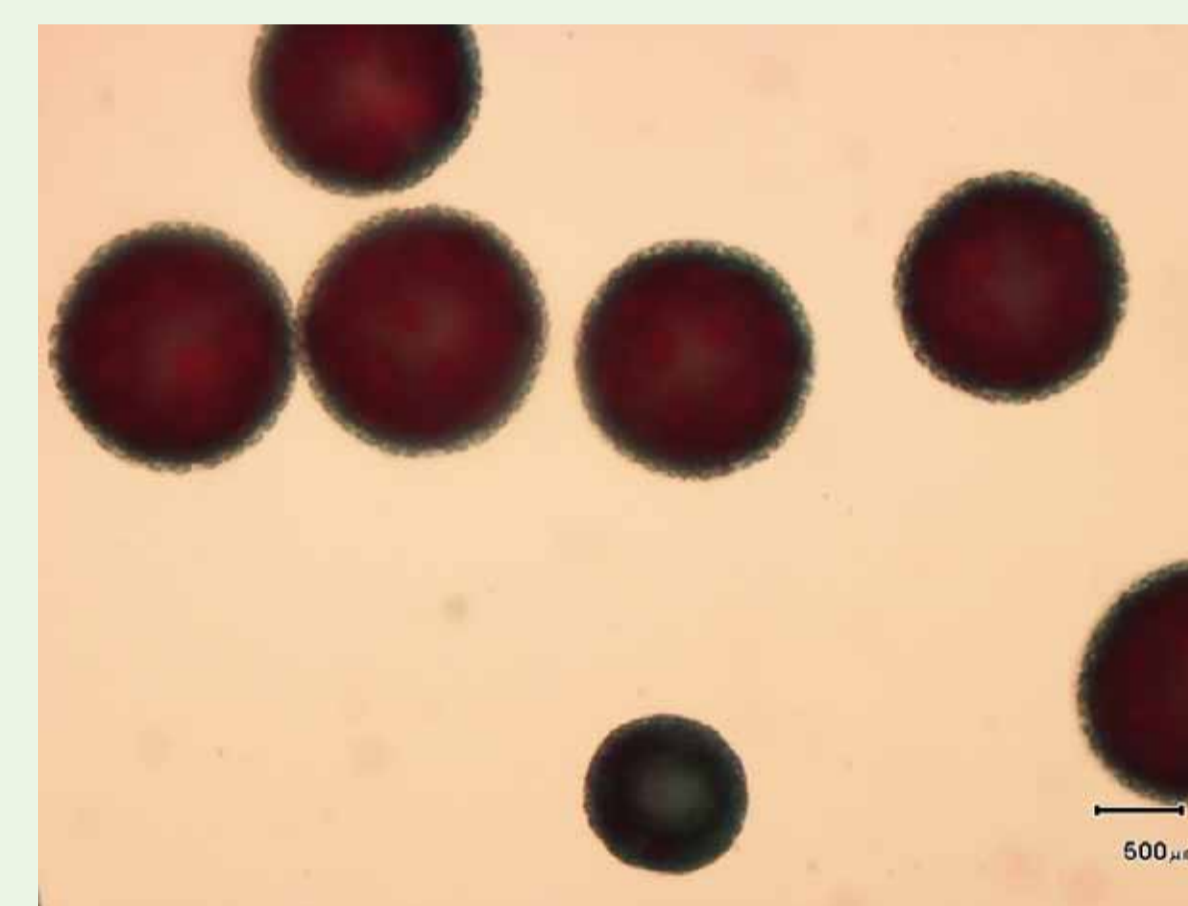
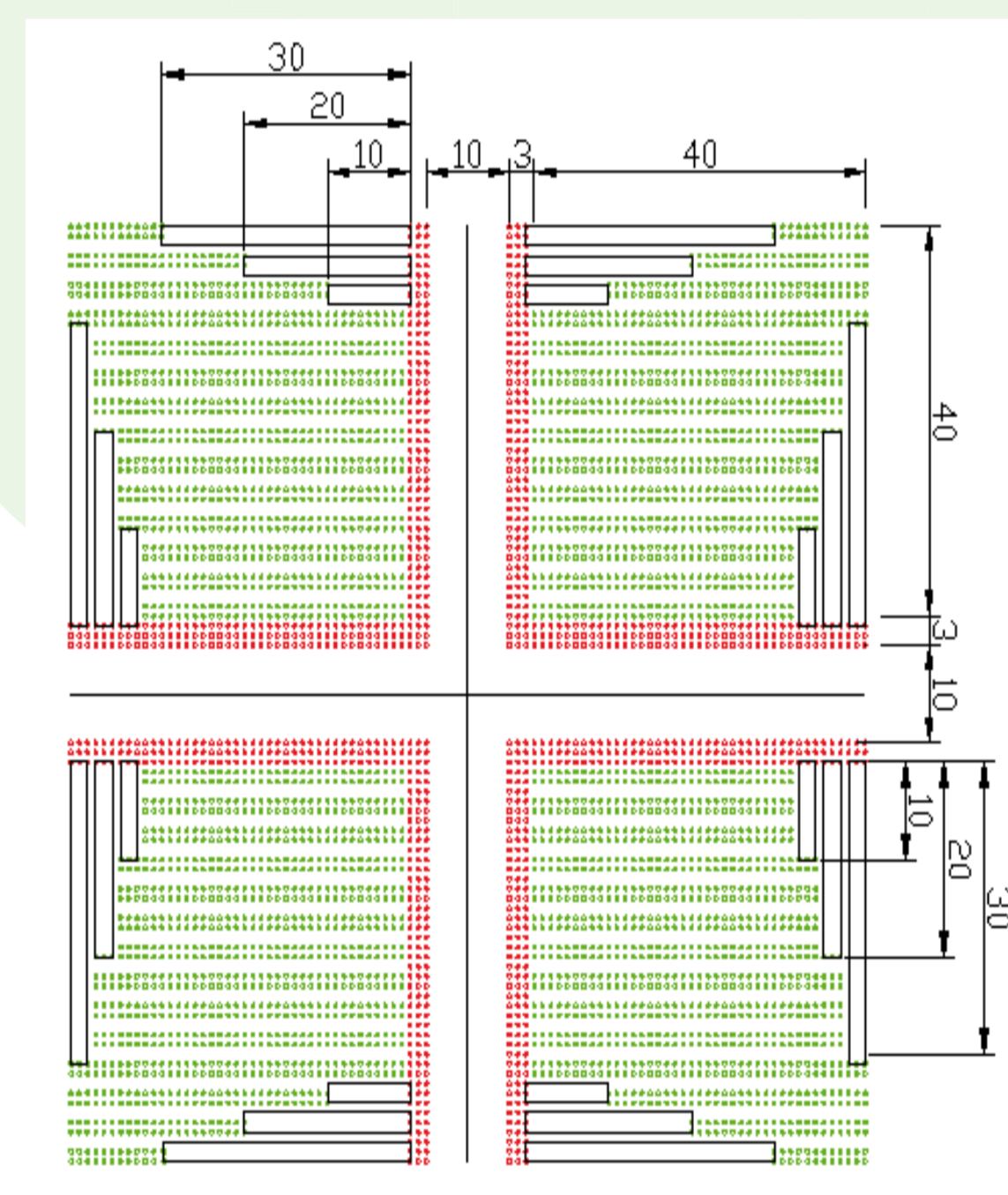


Figura 1. Polen viable del donador (rojo) y polen no viable (azul)



Figura 2. Flor femenina y el polinizador

3. Se registró la floración de plantas, vigor, número de ramificaciones (Embrapa, 1998), viabilidad de polen siguiendo la tinción de Alexander (Peterson et al. 2010).
4. Se siguió el desarrollo floral de las inflorescencias en veinte plantas del donador HMC1 y el clon androestéril (MCO1 1522). Adicionalmente se observó los visitantes florales y la apertura floral entre las 09:00 y las 16:00 horas.
5. Se realizó la cosecha individual de capa planta y se realizó el conteo de frutos.
6. Las semillas fueron sometidas a una prueba de viabilidad y las semillas fueron

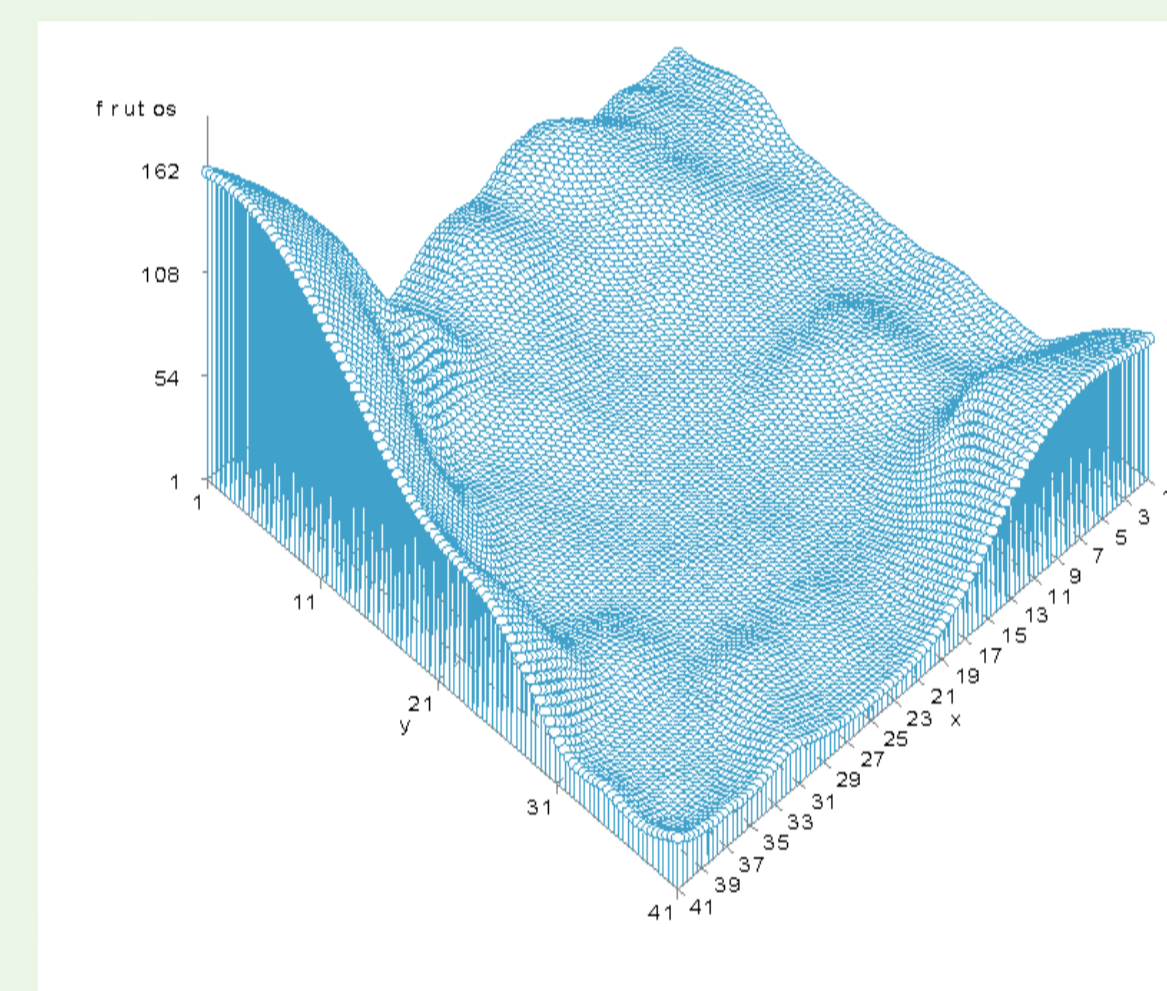


Figura 3. Número de frutos registrados en 40 m



Figura 4. Cosecha de semillas F1. Conteo de frutos en la línea androestéril confirmación mediante SSR.

RESULTADOS Y DISCUSION

La viabilidad del polen donador fue mayor del 80% mientras que el clon androestéril no se registró polen viable, permitiendo la formación de fruto por polen externo (Figura 1). El solapamiento temporal en la floración y apertura floral fue de 11:00 a 15:00 horas y el principal visitante floral fue *Apis mellifera* (Figura 2). Bajas tasas de cruzamiento (15 %) fueron registradas al contabilizar más de 20.000 frutos..

Mediante modelación espacial de la viabilidad de polen y el número de frutos utilizando curvas de nivel (SAS ver 9.3) se observó que el número de fruto disminuyó a medida que se incrementó la distancia (Figuras 3 y 4). Sin embargo, otros factores como el vigor de la planta, la presencia de espacios libres (10, 20 y 30 m, Figura 2) pueden favorecer la presencia de polinizador y el incremento en tasa de cruzamiento. Estas tasas son menores que las registradas utilizando marcadores morfológicos como la forma del lóbulo y color de la vena (Kawano et al., 1978; Silva et al. 2003). La baja incidencia de flujo puede ser explicada por las altas precipitaciones que interrumpieron el solapamiento en la floración.

Los marcadores moleculares tipo SSR confirmaron la naturaleza híbrida en la primera descendencia de la línea androestéril (Figura 5).

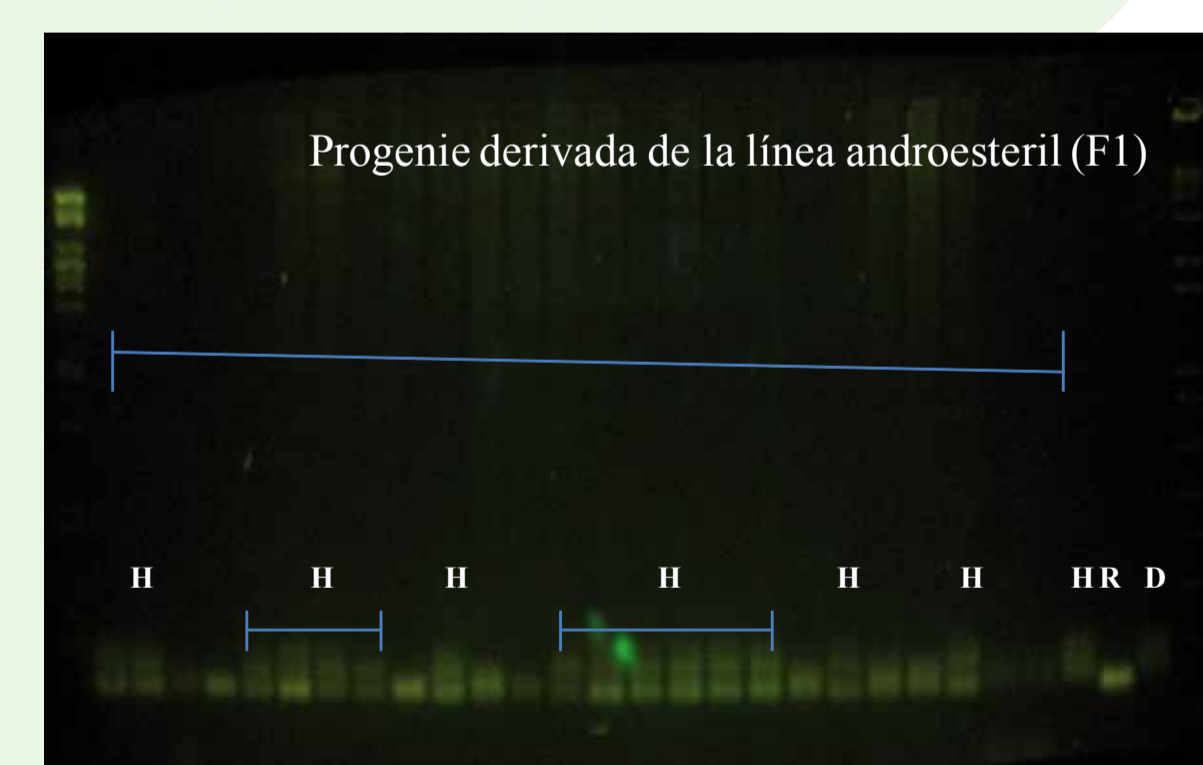
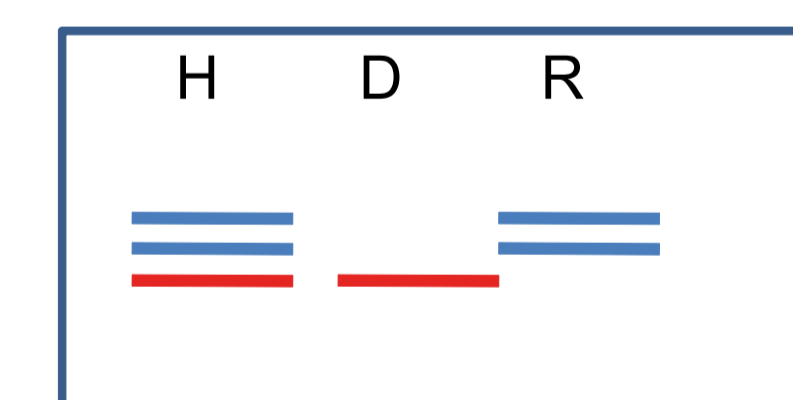


Figura 5. PCR del SSR y su visualización en agarosa al 2.8% en donde se muestra híbrido (H), donador de polen (D) y receptor de polen.



CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los clones cultivados en campo presentaron características de floración, vigor y viabilidad de polen adecuadas para permitir un solapamiento en la apertura floral, encontrándose frutos a más de 40 m en clon androestéril. Este resultado está en el rango de distancia de separación reportado por Kawano et al. (1978) y Álvarez y Daza (1985) pero implica que se debe incrementar la distancia desde la fuente de polen para garantizar aislamiento reproductivo. Para generar procedimientos adecuados de evaluación de riesgo ambiental, es necesario tener en cuenta: la característica a evaluar, la capacidad reproductiva y los parámetros de floración.

El flujo no es homogénea dentro del campo, diferencias en las características en el suelo Pueden influir en el desarrollo de la planta.

Alvarez A, Daza, P. 1985. Dinámica de la polinización natural en yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y sus implicaciones en el mejoramiento genético del cultivo. Tesis Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 58 p. --- EMBRAPA, 1998. Descriptores morfológicos e agronómicos para a caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.). Documentos # 78. 33 p. --- Halsey M, Olsen K, Taylor N. and Chavarriaga-Aguirre P. 2008. Reproductive biology of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and isolation of experimental field trials. Crop Science. 48: 49-58. --- Kawano K, Amaya A, Daza P. and M. Rios. 1978. Factors Affecting Efficiency of hybridization and Selection in Cassava. Crop Science 18(3): 373-376. --- Peterson R, Slovin J, Chen C. 2010. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. Department of Horticultural Science, University of Minnesota. --- Prochnik S, Marri P, Desany B, Rabinowicz P, Kodira C, Mohiuddin M, Rodriguez F, Fauquet C, Tohme J, Harkins T, Rokhsar D. and Rounsley S. 2012. The Cassava Genome: Current Progress, Future Directions. Tropical Plant Biol. (2012) 5:88-94. --- Silva R, Bandel G. and Martins P. 2003. Mating system in an experimental garden composed of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) ethnobotanics. Euphytica 134: 127-135.

