

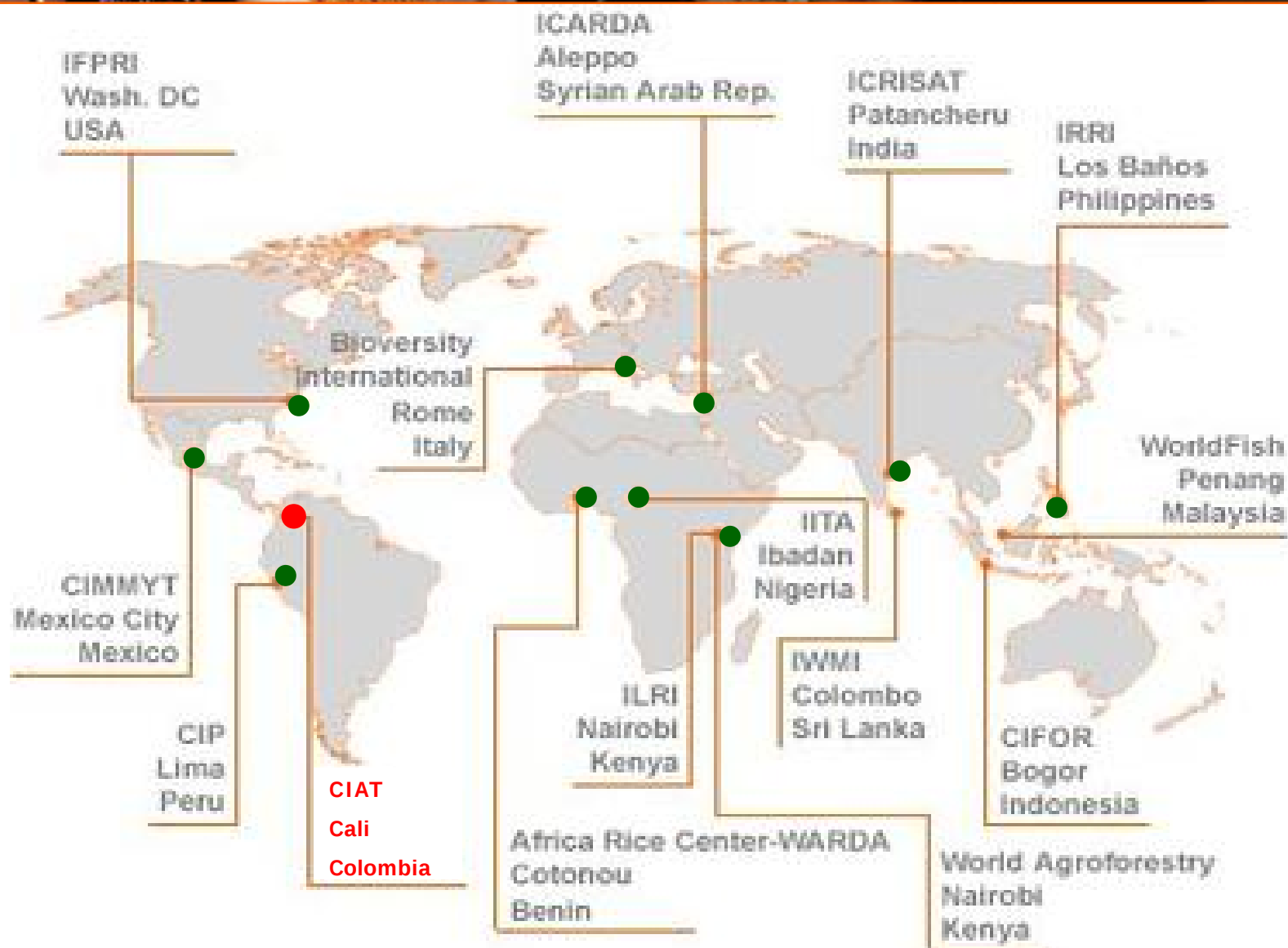
Conservación y distribución de la colección *in vitro* de *Manihot* en el Centro Internacional de Agricultura Tropical

Graciela Mafla B.
Programa de Recursos Genéticos
CIAT, Cali, Colombia

17° Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais
e 4° Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas
Aracaju, Brasil, Octubre 18-23 de 2009



Consultative Group on International Agricultural Research CGIAR



Colecciones conservadas en los centros del CGIAR

(Órgano Rector del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura)

Centros/Ubicación	Cultivos	Accesiones (No.)
CIAT, Colombia	Frijol, Forrajes (trópico bajo), Yuca	65,505
CIMMYT, México	Maiz, Trigo	158,886
CIP, Perú	Papa, Camote, Raices y tubérculos	14,000
ICARDA, Siria	Cereales, Forrajes, Garbanzo, Lenteja, Haba	133,177
ICRAF, Kenia	Árboles agroforestales	20,000
ICRISAT, India	Sorgo, Mijos, Gandul, Garbanzo, Cacahuete	113,000
IITA, Nigeria	Guisante, vigna, Yuca, Caupí, Batata, otros	44,418
ILRI, Kenia	Forrajes (trópico mediano-alto)	18,000
IPGRI/INIBAP, Italia	Banano y plátano	1,148
IRRI, Filipinas	Arroz	107,745
WARDA, Côte d'Ivoire	Arroz	20,000
TOTAL		695,879

FUENTE; SINGER, 2009



Tratado internacional

SOBRE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA



Germoplasma conservado en CIAT registrado ante el Tratado Internacional

(Acuerdo firmado con el Organo Rector el 16 de Octubre de 2006)



Cultivos	Puesto (No.)	Taxa (No.)	Países Procedencia (No.)	Accesiones (No.)
Frijoles (<i>Phaseolus</i>)	1	44	109	35,898
Yuca (<i>Manihot</i>)	1	33	28	6,467
Pastos Tropicales	1	668	72	23,140
		745		65,505

Materiales de germoplasma como Bienes Públicos Internacionales

(Nro. 2: Frijoles USDA 14,782; Yuca EMBRAPA 3,902; Pastos Tropicales ILRI 18,661)

Necesidades de coleccionar, conservar y evaluar la diversidad genética de *Manihot*

- Crisis mundial por alimentos: incrementar demanda para consumo fresco o procesado
- Uso industrial: especialmente almidones
- Demanda del sector privado: Alto rendimiento
- Nuevos usos para yuca : Mejorar la calidad proteínica
- Tolerancia al deterioro poscosecha
- Cambio climático?
 - Estrés biótico (plagas y enfermedades)
 - Estrés abiótico (tolerancia a sequía, etc)



ALTERNATIVAS DE CONSERVACIÓN PARA *Manihot*

BANCO DE CAMPO



- permite evaluaciones, pero necesita renovación periódica
- riesgo de contaminación en los centros primarios de diversidad
- distribución internacional no es permitida

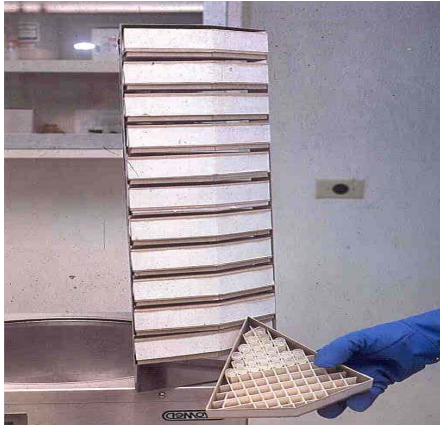
BANCO *in vitro*



- puede certificarse como material limpio
- distribución internacional es permitida
- necesita subcultivos periódicos aún bajo crecimiento frenado

ALTERNATIVAS DE CONSERVACIÓN PARA *Manihot*

BANCO CRIOCONSERVADO



- permite conservación a largo plazo
- necesita subcultivos, aunque no frecuentes
- inadecuado para distribución internacional
- inversión en personal y equipos

BANCO DE SEMILLAS



- permite conservación a largo plazo
- necesita regeneración periódica, aunque no frecuentes
- adecuado para conservación y distribución de especies de *Manihot*
- no todas las especies de *Manihot* evaluadas; comportamiento ortodoxo?
- conserva genes, no genotipos. (doble propósito)

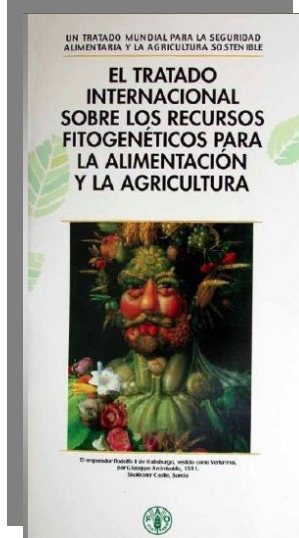
Materiales de *Manihot* registrados ante el Tratado Internacional

Cultivares Primitivos	5,184
------------------------------	--------------

Silvestres	883
-------------------	------------

Material Mejorado (CIAT)	400
---------------------------------	------------

Total	6,467
--------------	--------------



Fuente: CIAT-PRG, 2009

Germoplasma de yuca (*M. esculenta*) en CIAT- PRG

Regiones	Accesiones Nos / %
Colombia	2,000 / 38.5
Brazil	1,281 / 24.7
Otros países de Sur América (6)	1,127 / 21.7
Otros, Centro América y Caribe (10)	384 / 7.4
Asia (7)	257/ 4.9
Otros países (3)	135/ 2.6
5,184 Cultivares primitivos (28 países)	

Prioridades para exploración: Bolivia, Brazil, Colombia, Haití, Nicaragua, Perú, Venezuela, algunos países de Africa (Hershey, 2008)

Especies silvestres de *Manihot* en CIAT- PRG

Especies	Genotipos (No.)	Especies	Genotipos (No.)	Especies	Genotipos (No.)
<i>M. esc. flabellifolia</i>	314 (35,5%)	<i>M. cecropiaefolia</i>	6 (0,6%)	<i>M. fruticulosa</i>	1 (0,1%)
<i>M. carthaginensis</i>	148 (16,7%)	<i>M. chlorosticta</i>	6 (0,6%)	<i>M. sparsifolia</i>	2 (0,2%)
<i>M. peruviana</i>	139 (15,7%)	<i>M. longepetiolata</i>	6 (0,6%)	<i>M. purpureo-costata</i>	1 (0,1%)
<i>M. caerulescens</i>	54 (6,1%)	<i>M. tristis</i>	6 (0,7%)	<i>M. pentaphylla</i>	1 (0,1%)
<i>M. guaranitica</i>	35 (3,9%)	<i>M. glaziovii</i>	5 (0,5%)	<i>M. brachyloba</i>	1 (0,1%)
<i>M. epruinosa</i>	27 (3,0%)	<i>M. filamentosa</i>	5 (0,5%)	<i>M. pseudoglaziovii</i>	1 (0,1%)
<i>M. violacea</i>	23 (2,6%)	<i>M. aesculifolia</i>	4 (0,4%)	<i>M. peltata</i>	1 (0,1%)
<i>M. janiphoides</i>	21 (2,3%)	<i>M. dichotoma</i>	4 (0,4%)		
<i>M. rubricaulis</i>	15 (1,7%)	<i>M. hastatiloba</i>	4 (0,4%)		
<i>M. triphylla</i>	14 (1,6%)	<i>M. irwinii</i>	2 (0,2%)		
<i>M. jacobinensis</i>	13 (1,4%)	<i>M. quinquepartita</i>	2 (0,2%)		
<i>M. orbicularis</i>	10 (1,1%)	<i>M. pilosa</i>	2 (0,2%)		
<i>M. alutacea</i>	8 (0,9%)	<i>M. anomala</i>	2 (0,2%)		

883 genotipos (33 especies)

Porqué conservar especies silvestres?

Especie	Características útiles
<i>M. alutacea</i> Roger y Appan	Resistencia a ácaros
<i>M. chlorosticta</i> Standley y Golman	Resistente al virus del mosaico africano y tolerante a sequía
<i>M. carthaginensis</i> Mueller von Argau	Tolerante a la sequía y a la alta actividad decarboxilasa del fosfoenol piruvato
<i>M. filamentosa</i> Pittier	Alto pontencial como forraje
<i>M. glaziovii</i> Mueller von Argau	Resistencia al virus del mosaico africano
<i>M. guaranítica</i> Chodat y Hassler	Tolerancia a bajas temperaturas estacionales
<i>M. longepetiolata</i> Roger y Appan	Tipo enano
<i>M. orbicularis</i> Pohl	Tolerancia a toxicidad del aluminio
<i>M. peltata</i> Pohl	Tolerancia a suelos ácidos
<i>M. tristis</i> Mueller von Argau	Alto contenido de proteína y almidón

Fuente: Chavez et al., 1987; Bellotti, 2008

PROPOSITOS DE LAS COLECCIONES

- **Conservación bajo Estandares Internacionales**

Viabilidad

Sanidad

Calidad genética

Estrategias complementarias

- **Disponibilidad a usuarios**

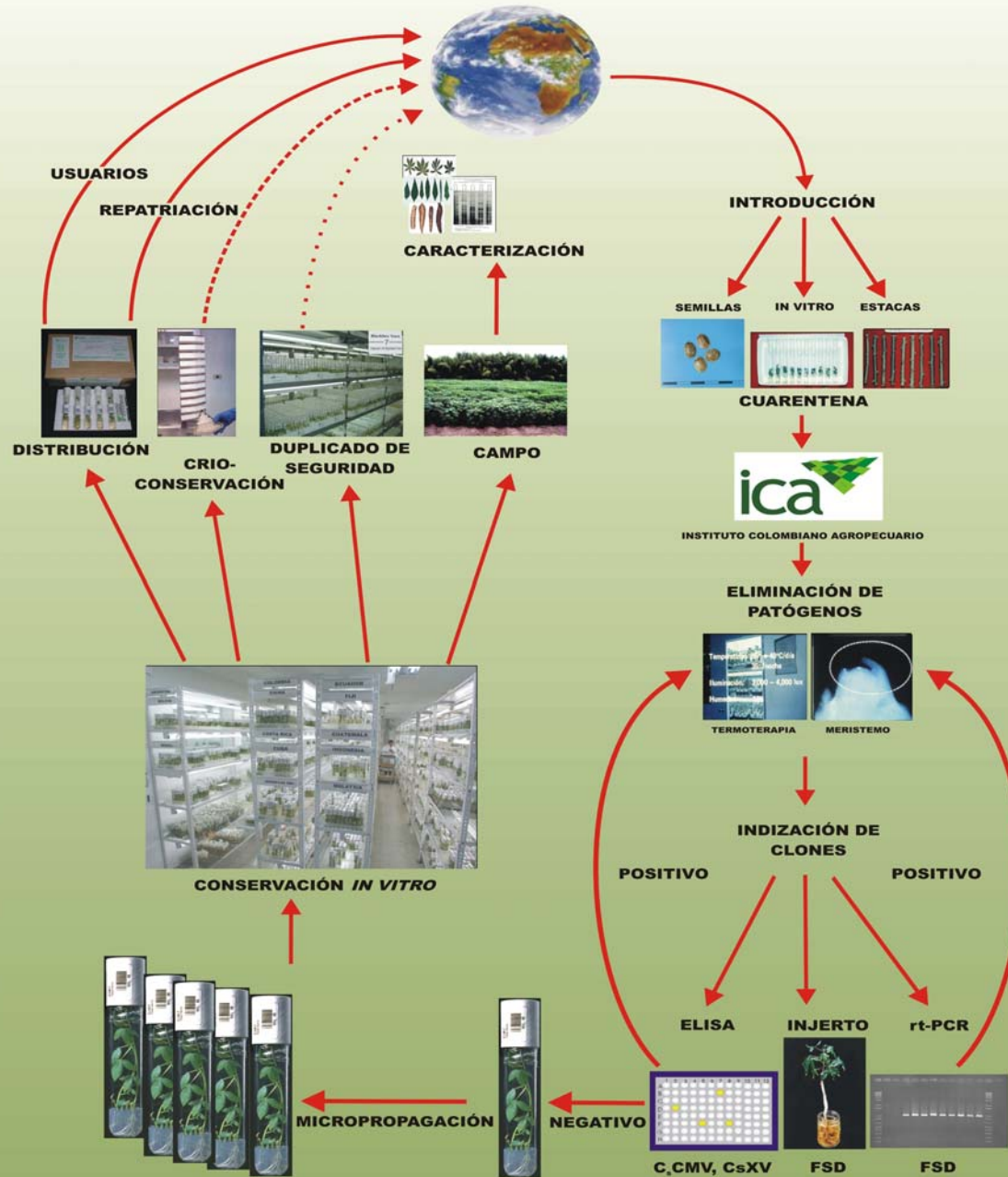
Datos de pasaporte y Datos de evaluaciones en la web

Duplicados de seguridad

Adquisición de germoplasma

Reportando a la Secretaria del Tratado

Diagrama de flujo de actividades para el manejo del germoplasma de *Manihot*



PROCEDIMIENTOS PARA LA IMPORTACIÓN DEL GERMOPLASMA DE YUCA



Permiso de importación de la
autoridad colombiana de
cuarentena vegetal



Certificado fitosanitario
País donante



Evaluación del estado fitosanitario
para Bacterias y hongos

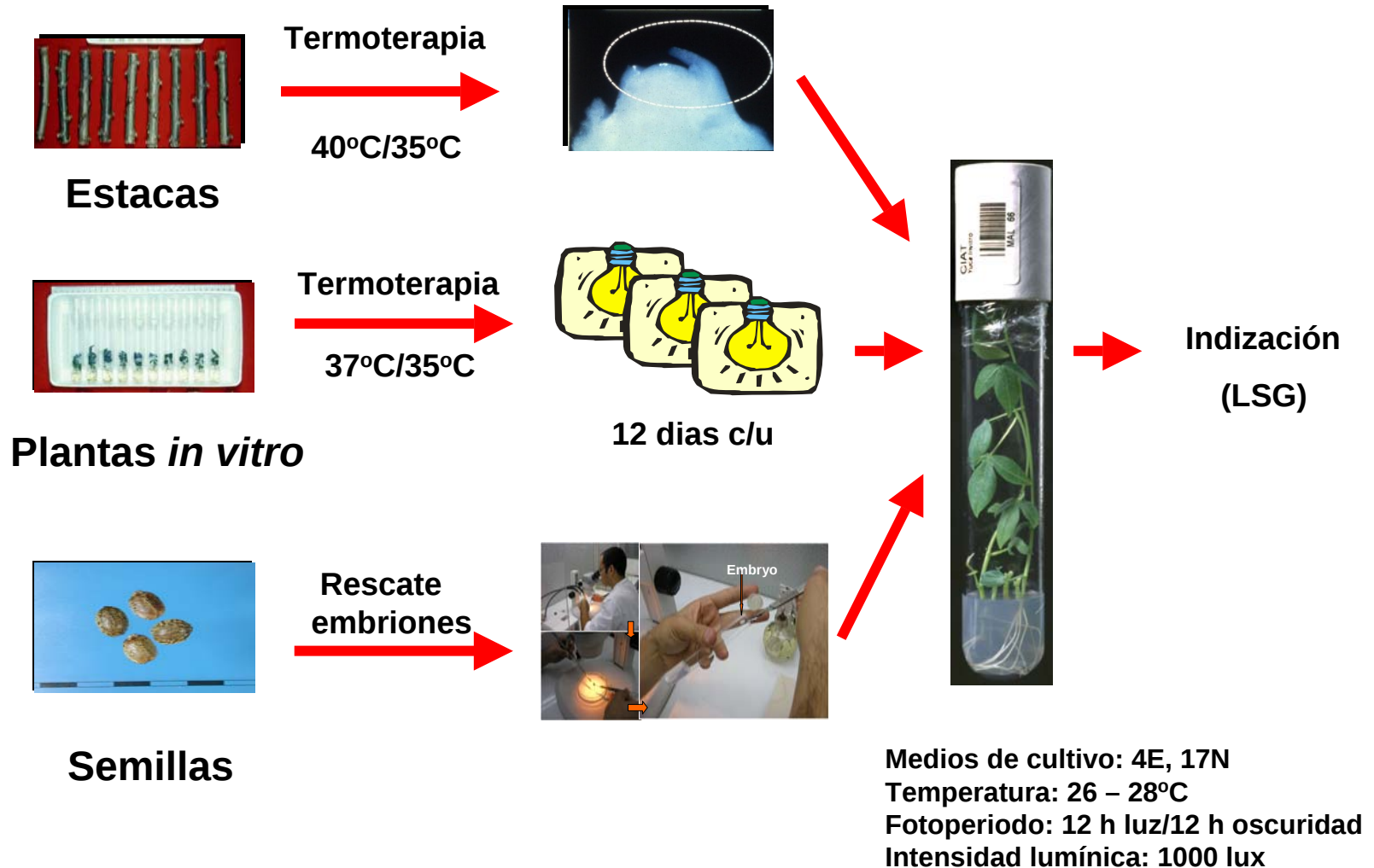


Erradicación de virus
Laboratorio de
conservación *in vitro*



Indización del material
Laboratorio de Sanidad de
Germoplasma

Procedimientos para la introducción de germoplasma

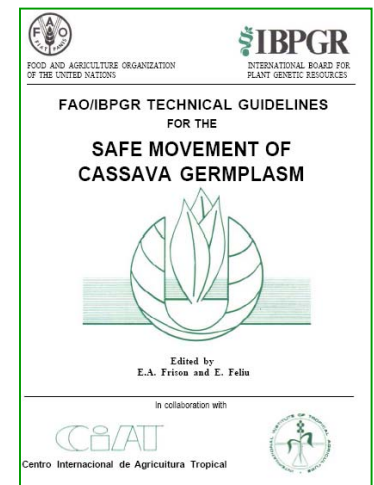


PATOGENOS DE IMPORTANCIA CUARENTENARIA



MOSAICO COMUN DE LA YUCA (CsCMV)

- Género Potexvirus
- Síntomas de mosaico y clorosis en las hojas.
- Se ha reportado en varios países de Sur América (Brasil, Paraguay, Mexico, Costa Norte de Colombia), África y Asia. (Costa & Kitajima, 1972)
- Perdidas en el rendimiento hasta del 60 %.
- No se le conoce un agente vector.
- Transmisión mecánica.



Fuente: Cuervo et al, 2009

PATOGENOS DE IMPORTANCIA CUARENTENARIA

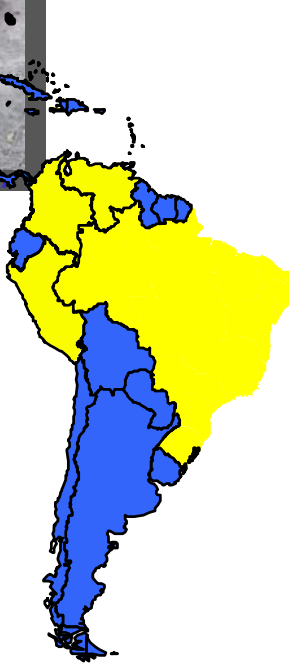
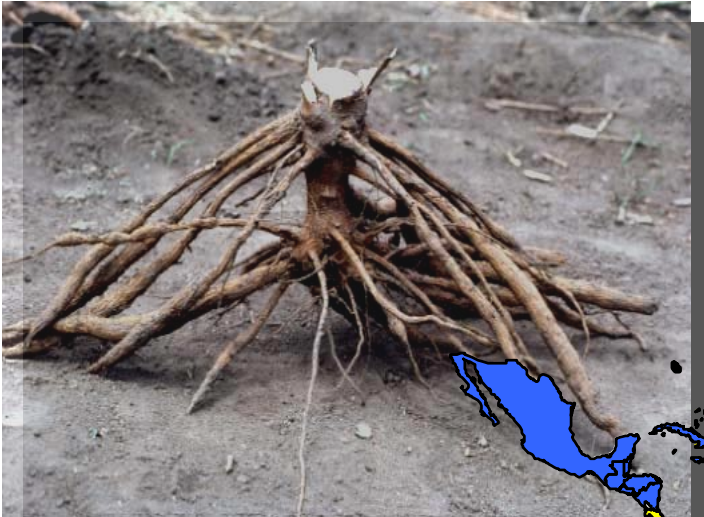


VIRUS X DE LA YUCA (CsXV)

- Género Potexvirus.
- Virus asintomático en Yuca, al ser inoculado en *Nicotiana benthamiana* presenta síntomas de mosaico.
- Se ha reportado en la Costa Norte de Colombia (Lennon y otros, 1986)

Fuente: Cuervo et al, 2009

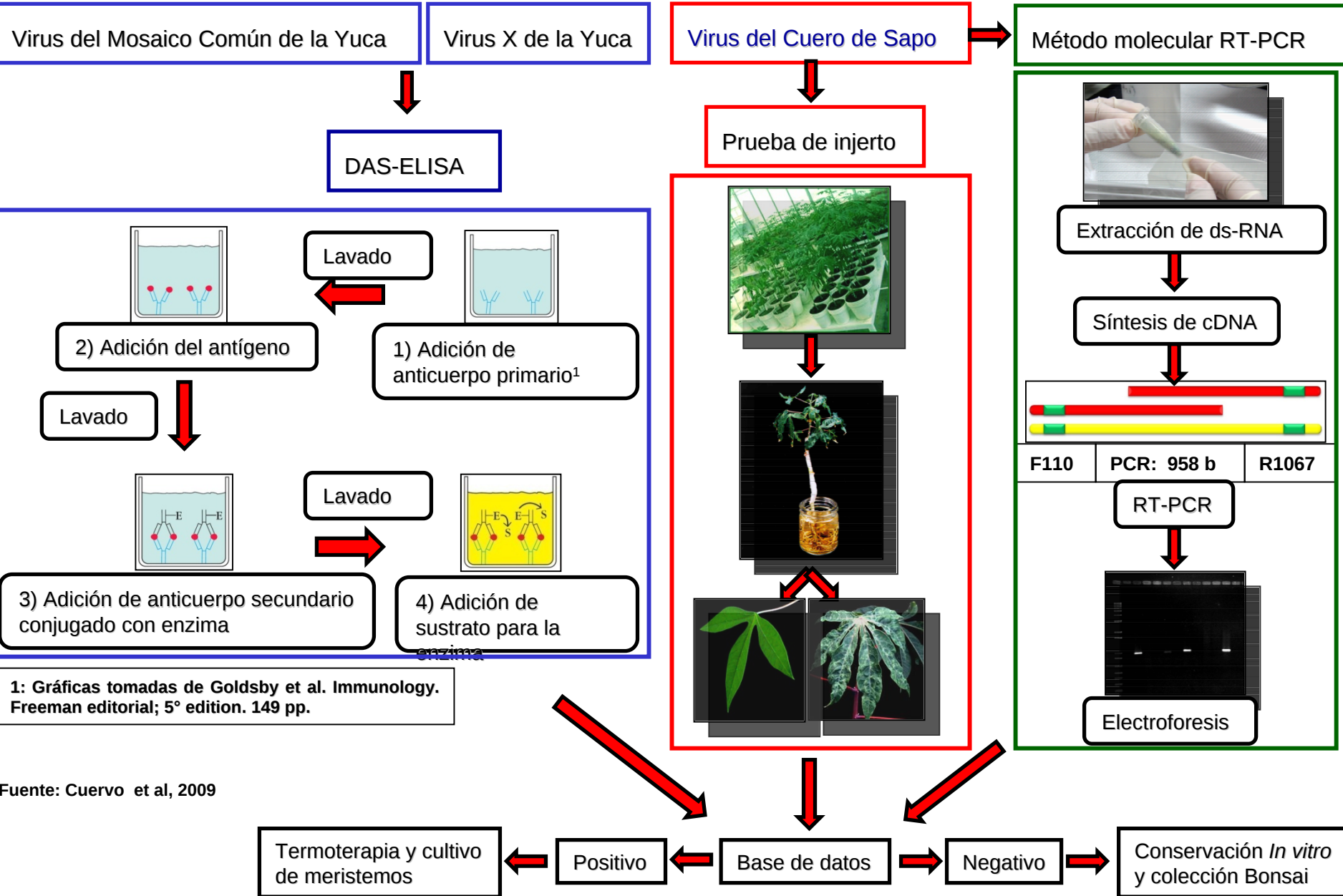
PATOGENOS DE IMPORTANCIA CUARENTENARIA



CUERO DE SAPO DE LA YUCA

- Reportada en 1971 en el Departamento del Cauca (Pineda y otros, 1983).
- Se ha presentado en la mayoría de las regiones yuqueras de Colombia y se ha ido extendiendo constantemente; ahora ya se ha reportado en Brasil, Costa Rica, Panamá, Perú y Venezuela.
- Es considerada como una de las mas perjudiciales para el cultivo, causando perdidas del 90 % o mas en el rendimiento (Lozano y Nolt, 1989).
- Las raíces permanecen delgadas, leñosas, de cáscara gruesa y corchosa y su contenido de almidón es muy bajo.
- La producción de material básico y certificado de propagación de yuca es la mejor estrategia para el control del cuero de sapo de la yuca

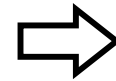
DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA INDIZACIÓN DE YUCA (*Manihot esculenta*)



Fuente: Cuervo et al, 2009

Mejora en los Métodos de Indización para la Enfermedad de Cuero de Sapo en Yuca

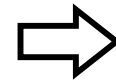
Prueba de Injerto Tradicional
(1984-1998)



Tiempo al diagnóstico

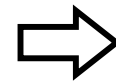
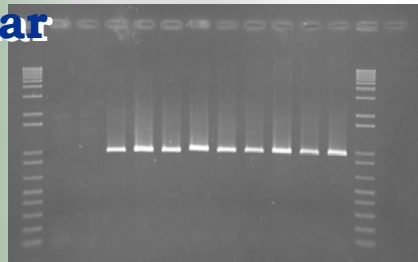
72 semanas

Prueba de Injerto Revisado
(1999-2007)



21 semanas

Método Molecular (rt-PCR)
(2007-)



0.7 semana

Conservación de Germoplasma *in vitro*

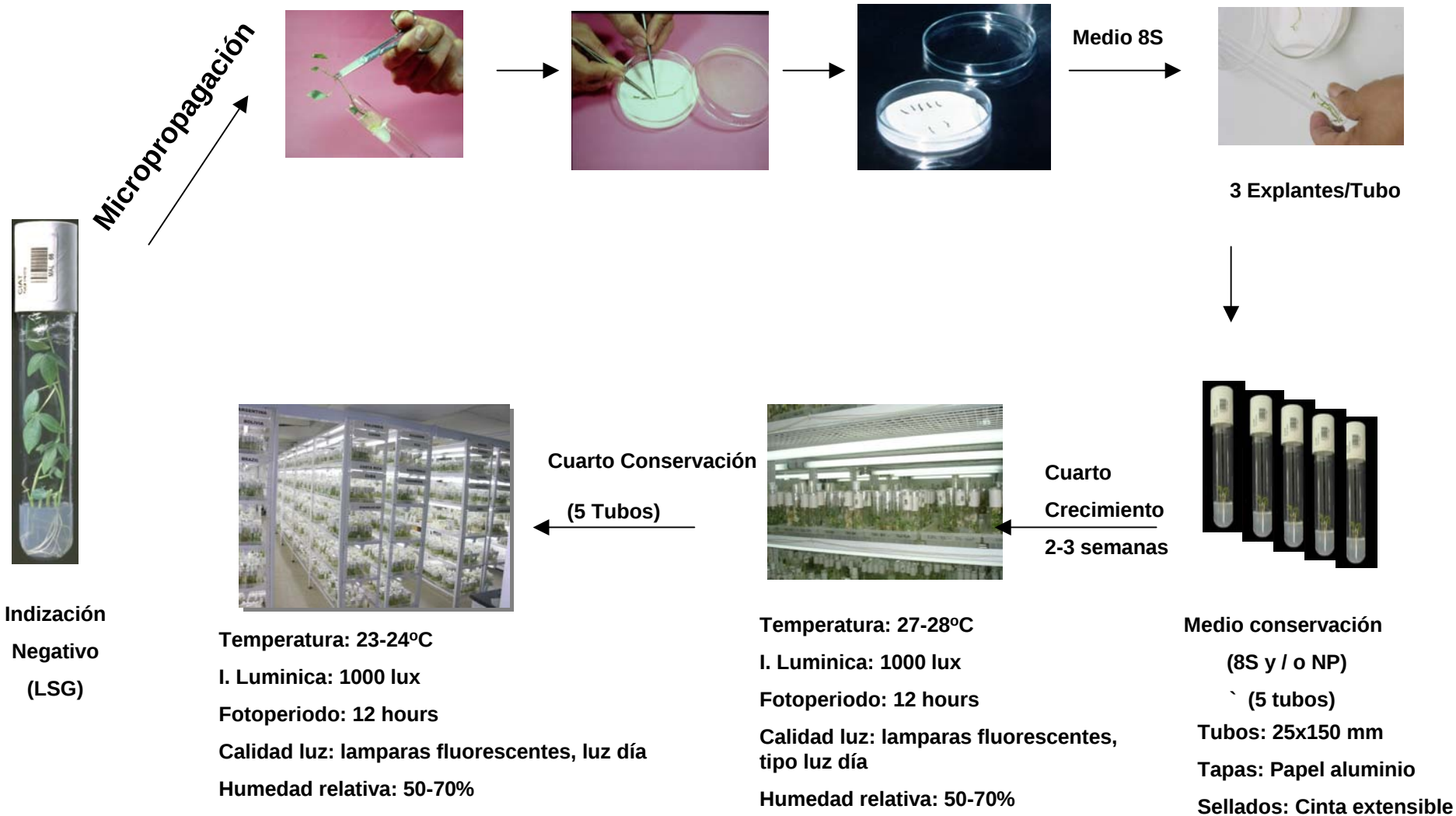


En la conservación *in vitro*, se busca una disminución de la tasa de crecimiento del tejido, sea mediante modificación en la composición del medio de cultivo, reduciendo la temperatura, por modificación de la concentración de gases, o por medio de la desecación esto con el fin de extender al máximo el intervalo de transferencia a medio fresco (Withers, 1980)

Métodos que controlan el desarrollo *in vitro*

- **Modificando la composición del medio de cultivo**
- **Disminución del potencial osmótico**
- **Uso de algunos retardantes e inhibidores de crecimiento**
- **Conservación a bajas temperaturas**
 - 2- 5°C para especies de zonas frías**
 - 8-17°C para especies subtropicales**
 - 20-24°C para especies tropicales**
- **Uso de inhibidores de etileno**

Procedimientos para la conservación *in vitro*



Condiciones de conservación *in vitro* en CIAT-PRG

Temperatura constante de 23-24 oC

Fotoperiodo 12 horas día/noche con 1000 lux de iluminación

Medio basal de Murashige- Skoog modificado (8S)

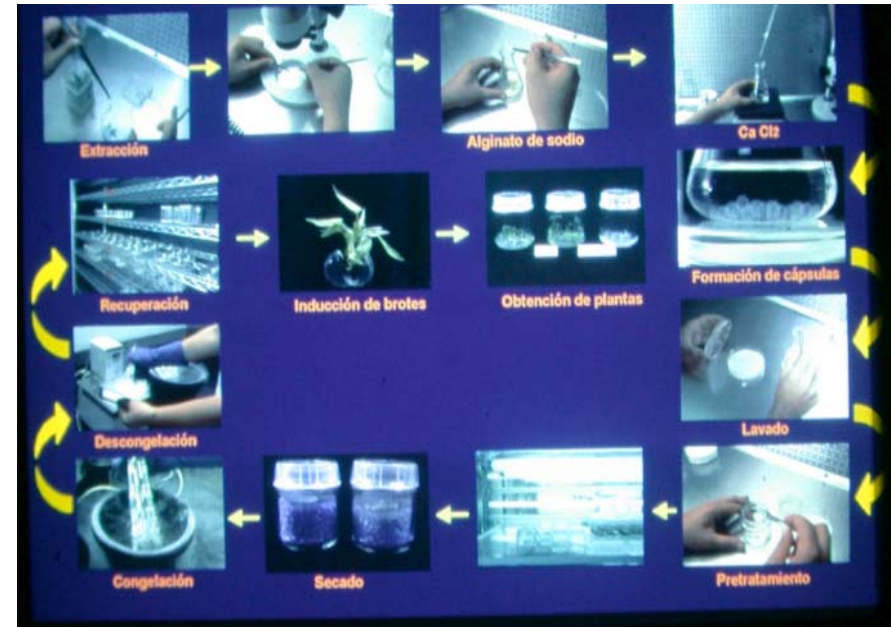
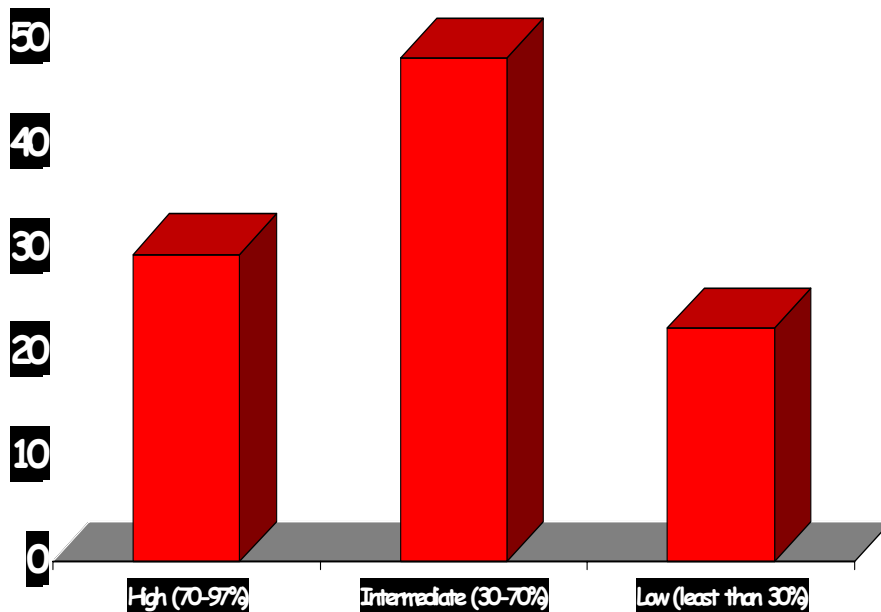
Tubos de ensayo 25x150 mm cubiertos con papel aluminio y sellados con cinta

Cinco tubos son mantenidos por clon

**Tiempo de conservación: 8 – 12 meses (8S)
18- 24 meses (NP)**

Crioconservación

- ✓ Establecimiento de la técnica encapsulación-deshidratación
- ✓ 95% de los clones del core evaluados
- ✓ 3 grupos de respuesta evaluados
- ✓ 60 clones evaluados en el campo



Fuente: Escobar et al, 2009

Calidad Genética (Metodologías)

Developer/2000 Forms Runtime for Windows 95 / NT - [BANCO DE YUCA]

Acción Edición Consulta Bloque Registro Campo Ayuda Ventana

Acción Género Especie

Caracterización Secundaria Evaluación Agronómica Otros Electroforesis

Otros Descriptores

Variedad	Descriptor	Estado	Lugar	Valor	Fecha	Responsable
BRA 337	PUBESCENCIA DEL COGOLLO	0	GY199665			
	LONGITUD DE LA FILOTAJA	5	GY199665			
	COLOR EXTERNO DE LA RAIZ (P)	4	GY199665			
	TEXTURA DE LA EPIDERMIS DE	7	GY199665			
	RELACION LARGO - ANCHO DEL	0	GY199665	5.90		
	COLOR DE RAMAS TERMINALES	7	GY199665			
	NIVELES DE RAMIFICACION	0	GY199665	5.00		
	HABITO DE RAMIFICACION	2	GY199665			
	ANGULO DE RAMIFICACION	0	GY199665	47.50		
	FORMA DE LA RAIZ	1	GY199665			

➤ Pasaporte

Developer/2000 Forms Runtime for Windows 95 / NT - [BANCO DE YUCA]

Acción Edición Consulta Bloque Registro Campo Ayuda Ventana

Acción Género Especie

Evaluación Agronómica Otros Electroforesis Imagen

Variedad Ensayo Fecha Core ☐

Responsable Electroforesis ☐

Datos Electroforesis

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22

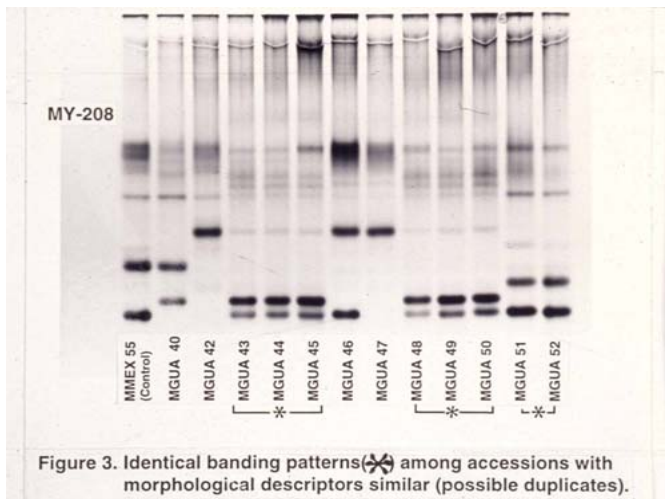
Responsable

Escala Electroforesis

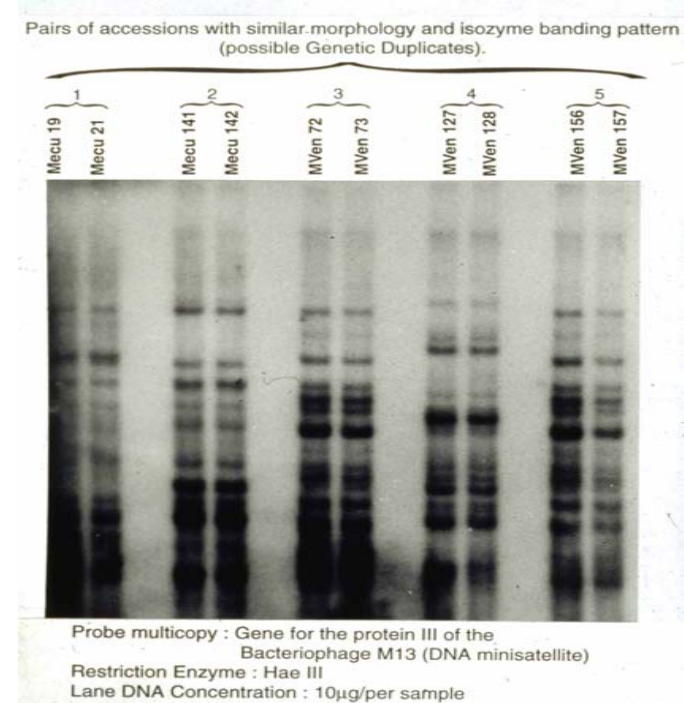
➤ Morfológica



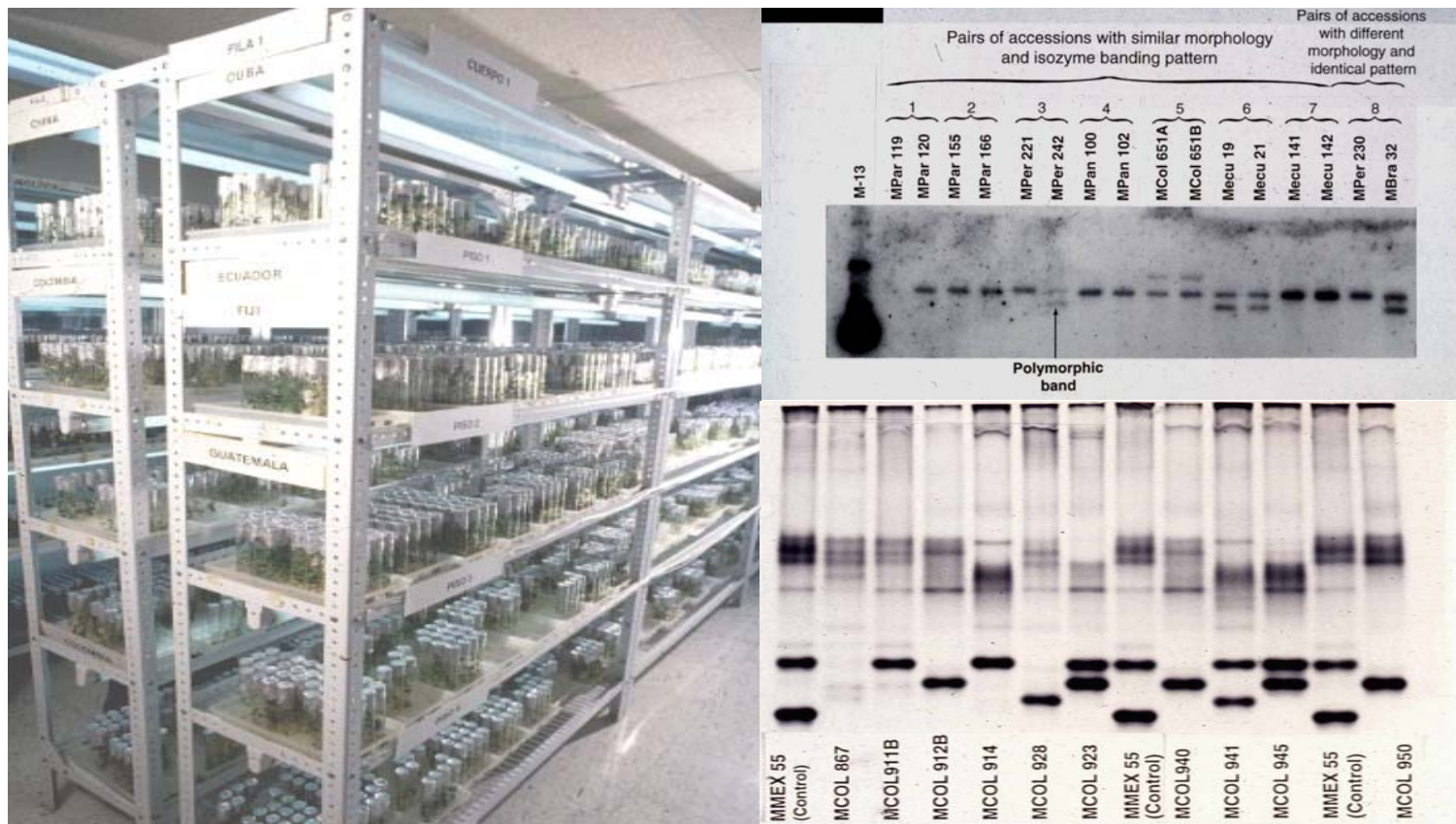
➤ Bioquímica



➤ Molecular



Busqueda de duplicados genéticos en la colección de yuca



Iniciados sobre la colección de Colombia: 1,986 accessions
10% de redundancia o 202 materiales que pueden ser fusionados
Ahorro anual de US\$ 2,088

Fuente: Ocampo et al. 2008

Estabilidad del germoplasma de yuca bajo condiciones de conservación *in vitro*

Research	Objetives	Materials (No.)	Methodology	Time of <i>in vitro</i> storage	Results and conclusions
The P-IVAG Project Report IPGRI/CIAT, 1994	Monitor the effects of subculture frequency and in the vitro storage times on genetic stability	100 clones	Morphological analysis and isoenzymes markers	9-10 years	No changes were observed in the isozymes “fingerprints” and the morphological analysis
Compare between in vitro and field by isozymes Ocampo et al., 1989 (Ann. Rep. BRU-CIAT)	Compare between in vitro storage and field growth by isozyme analysis	165 clones	Isoenzyme analysis	10 years	No changes were observed in the isozymes “fingerprints”
Genetic stability of plants at the DNA level Angel et al., 1996 (Euphytica)	Access the stability of plants at the DNA level after retrieval from 10 years of in vitro storage	7 clones	Molecular Anlysis: RAPDs, RFLPs and DNA fingerprinting	10 Years	No changes were observed in the molecular “fingerprints”
Efficacy of silver nitrate for slow-growth conservation of cassava Maffla and Ocampo, 1994 (CBN-VI)	Determination of viability and genetic stability.	6 clones	Biochemical (isozymes) and molecular analysis (AFLPs)	20 months	No changes were observed in the isozymes and AFLPs “fingerprints”

Fuente: Ocampo, C. , 2008

Duplicados Seguridad

CIAT

Banco in vitro

Bonsai

Crioconservación

DNA

6,467 (in trust)

928

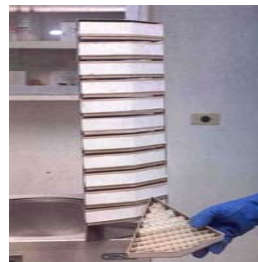
619 (9.4%)

188 (2.8%)

CIP

Duplicado
in vitro

4,888 (74.1%)



Distribución de materiales

➤ Solicitudes

www.ciat.cgiar.org/urg

gmafla@cgiar.org

➤ Material definido

➤ Proposito claro

➤ Normas fitosanitarias

Permiso de importación

Certificado Fitosanitario

Certificado Fitosanitario de Movilización

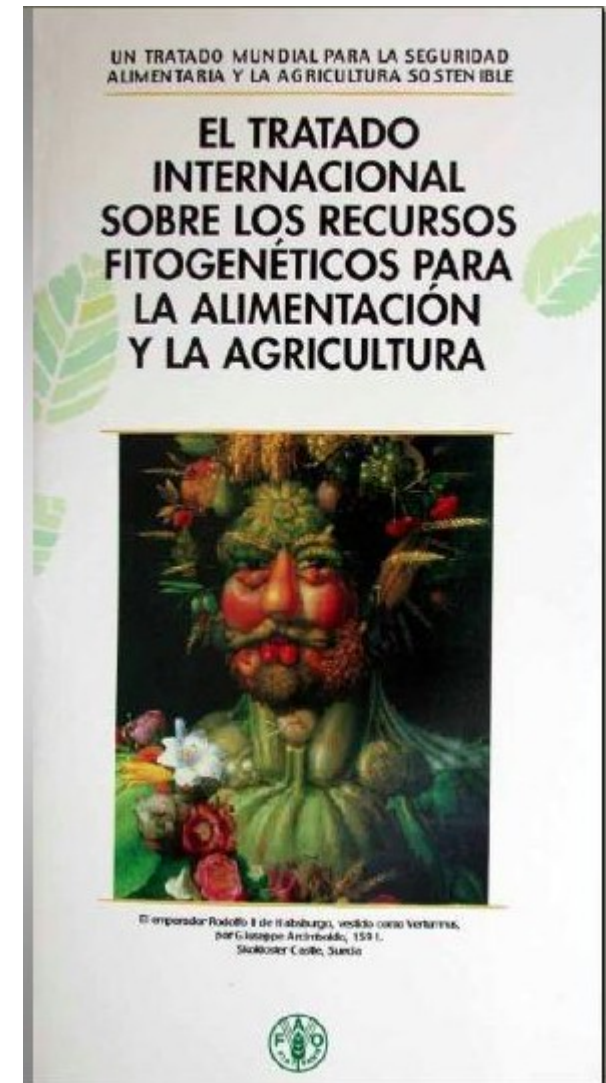


➤ Acuerdo sobre el SMTA

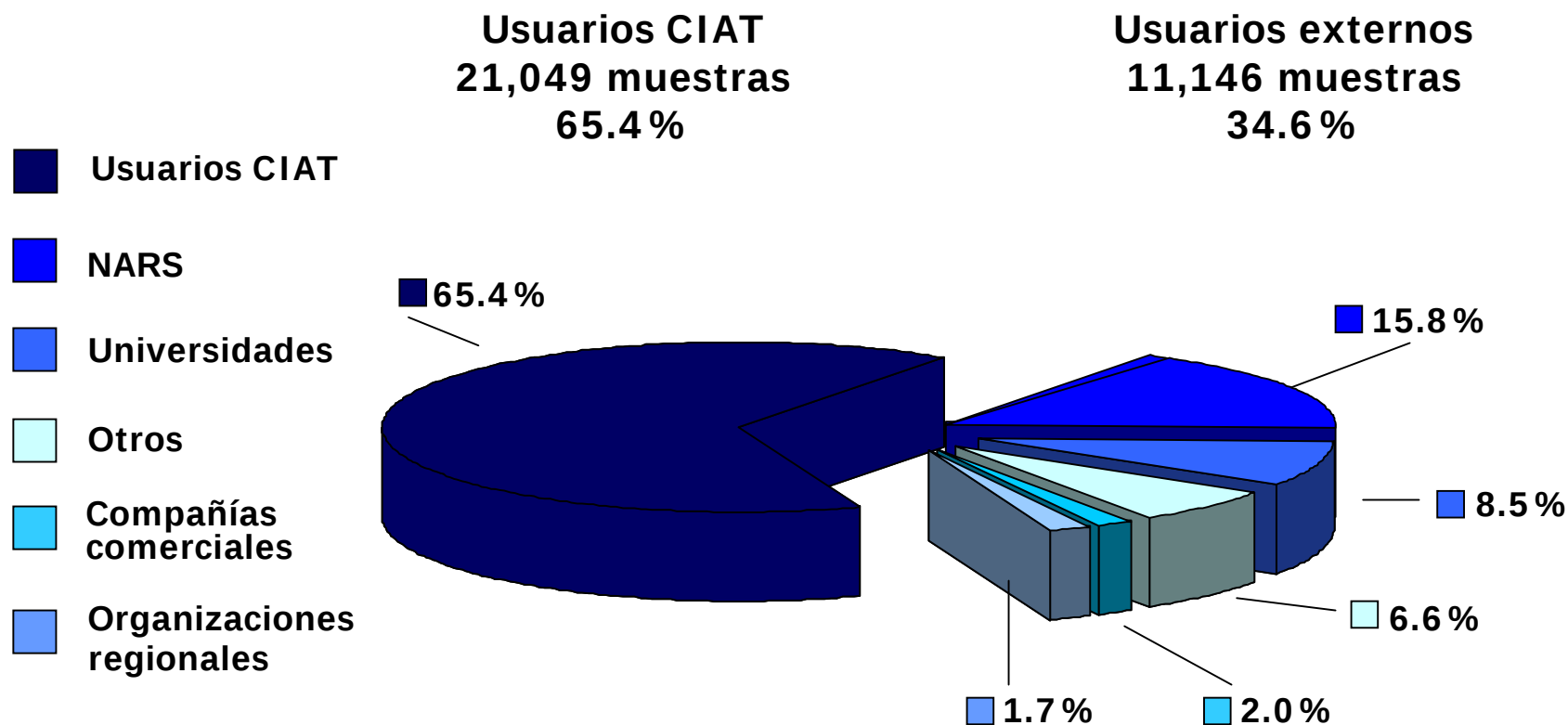
Opción 1: Firma

Opción 2: Material sellado

Opción 3: Electrónico



Distribución de germoplasma de yuca CIAT-PRG en 1979-2008

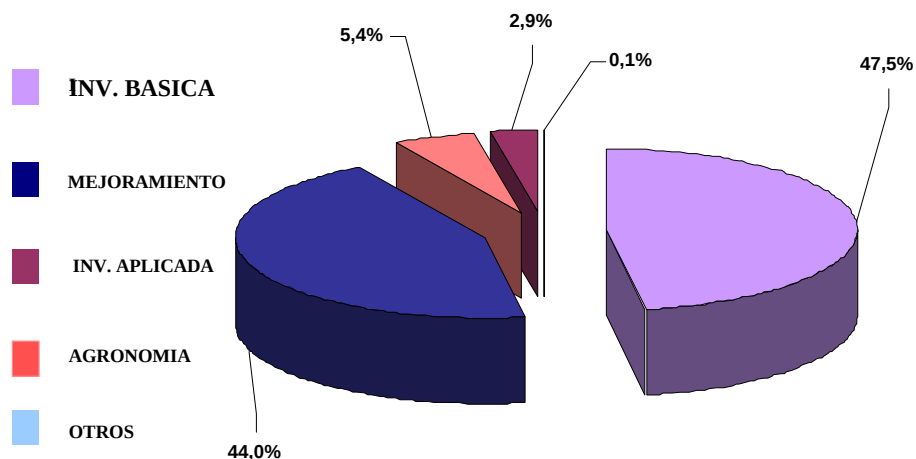


32,195 muestras (6,106 accesiones)
67 países

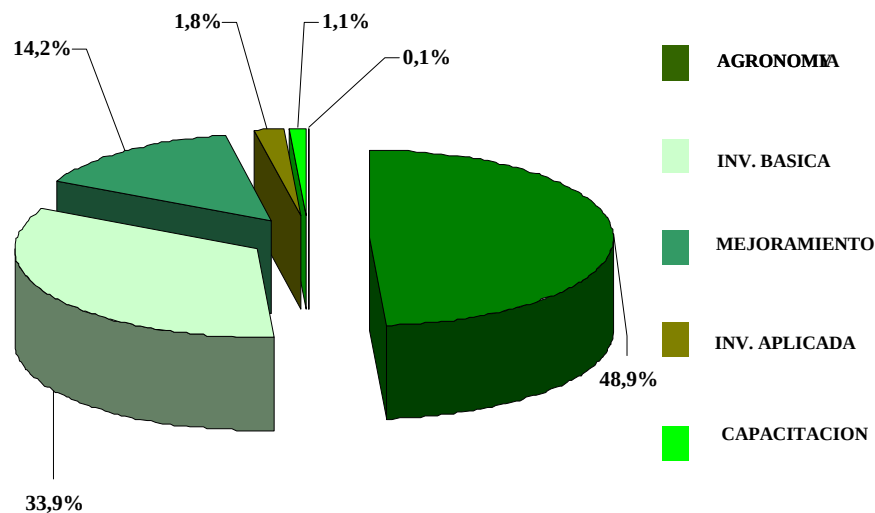
Fuente: CIAT, PRG, 2008

Distribución de germoplasma de yuca CIAT-PRG en 1979-2008

Usuarios CIAT
21,049 muestras



Usuarios Instituciones externas
en 67 países : 11,146 muestras

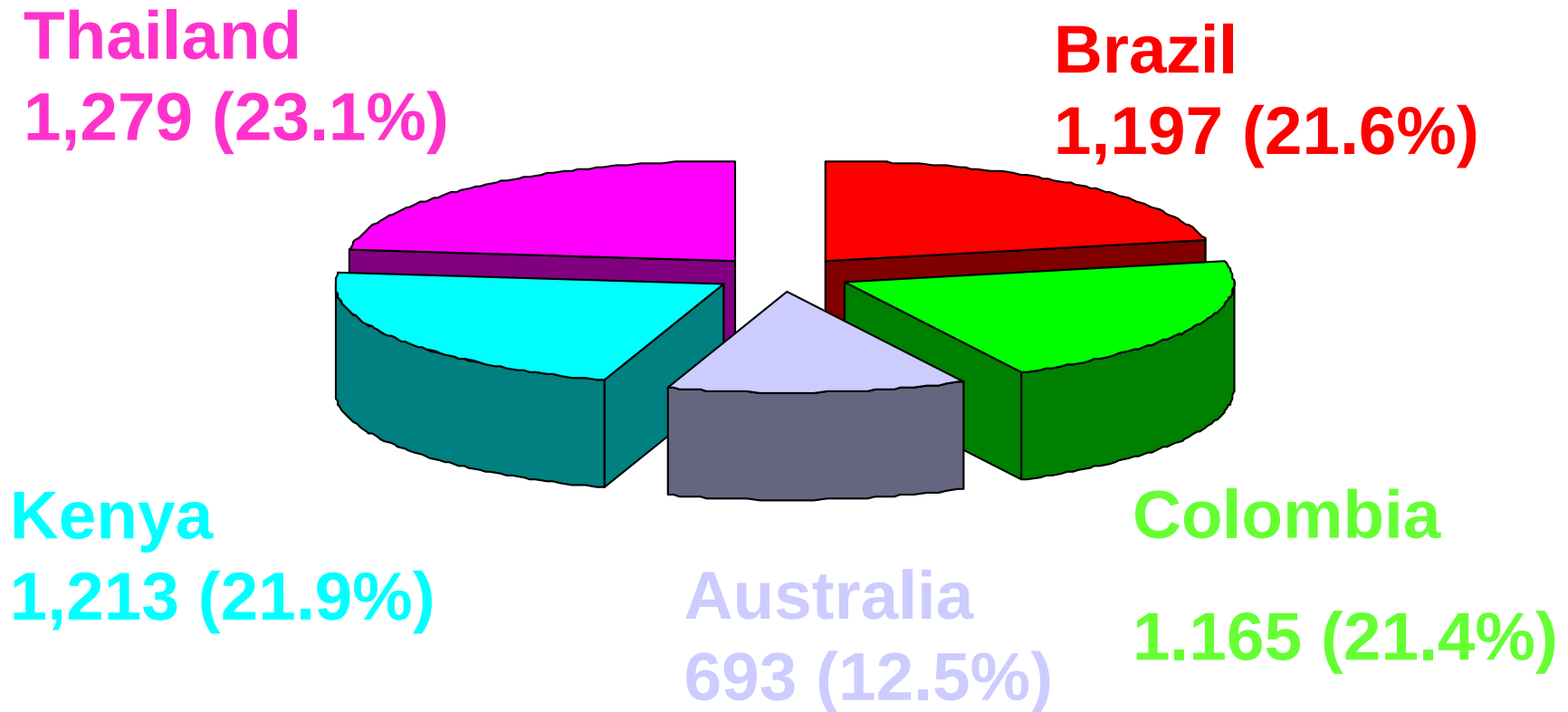


Fuente: CIAT, PRG, 2008

Distribución de germoplasma de yuca CIAT-PRG en 1979-2008

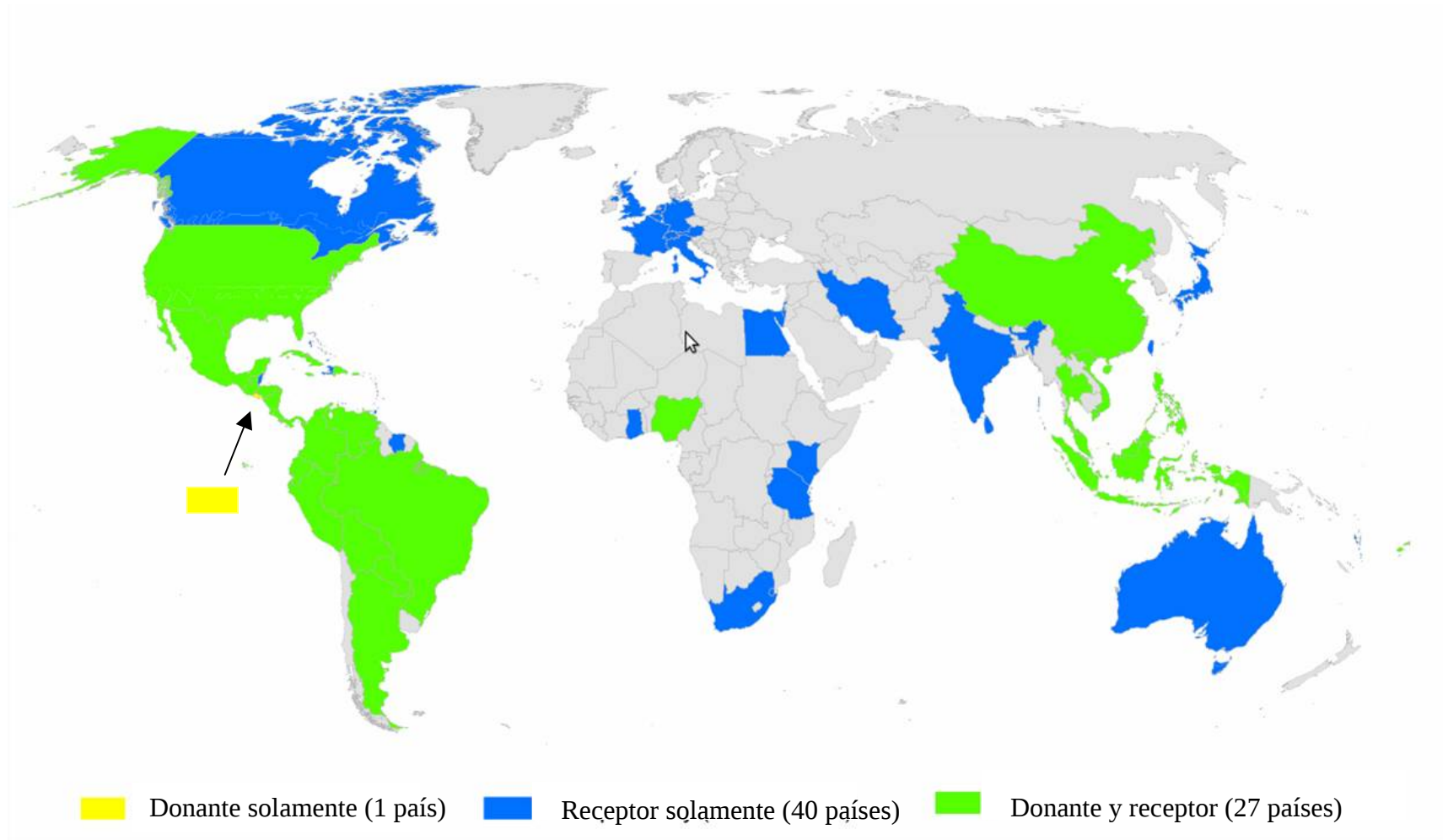
a instituciones externas y socios
en 67 países: 11,146 muestras

Los primeros 5 países (50.0 %)



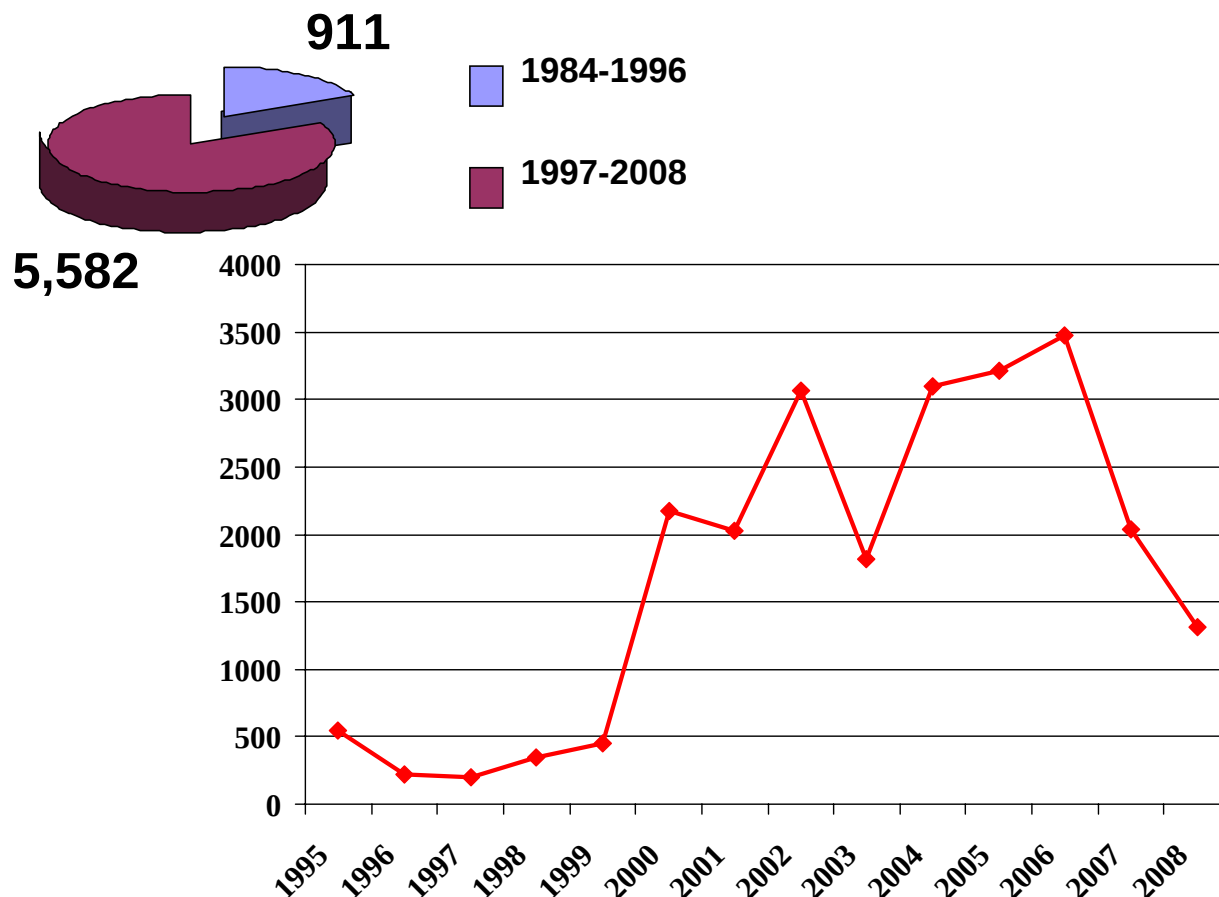
Fuente: CIAT, PRG, 2008

Movimiento del germoplasma de yuca de los países al CIAT y del CIAT a los países



Fuente: Mafla et al, 2009

Distribución de germoplasma de yuca CIAT-PRG de 1995 a 2008

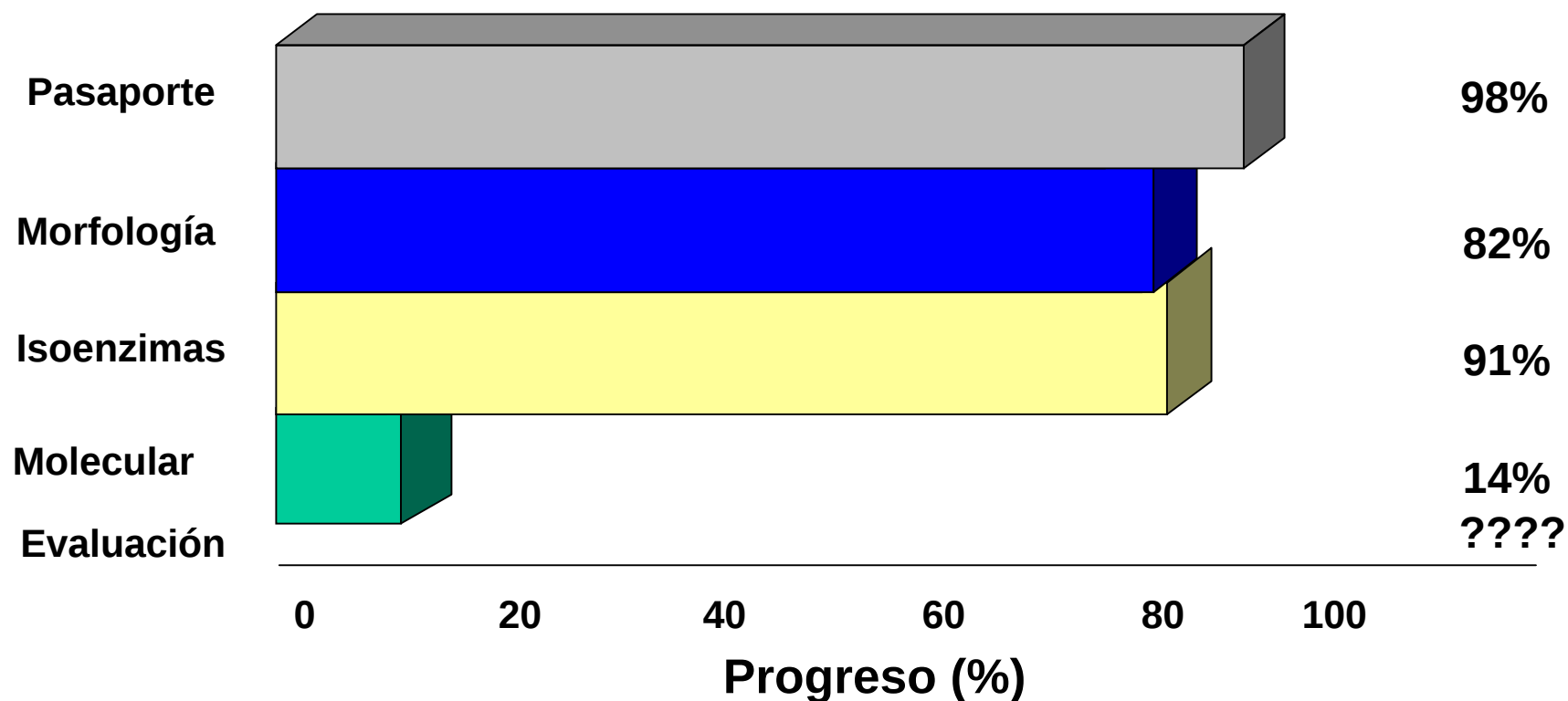


5,582 accessions

Germoplasma de *Manihot* limpia y certificada contra virus de importancia cuarentenaria

Fuente: CIAT, PRG, 2008

Progresos en la documentación de la colección del germoplasma de yuca mantenido en CIAT



Fuente: CIAT, PRG, 2009



Servicios

- Base de datos de frijol
- Base de datos de yuca
- Base de datos de forrajes
- Publicaciones

- Búsqueda de material por accesión
- Búsqueda de material por descriptores
- Solicitud de material

General

- Acuerdo de acceso a la información
- Acuerdo de transferencia de material
- Noticias
- Personal
- Acerca de la unidad
- Comentarios y sugerencias

Vínculos

- CIAT
- CGIAR
- FAO
- SINGER



Noticias:

XXIX Congreso Nacional de Fitopatología y Ciencias Afines, Ascolfi. Medellín, Colombia, junio 2-4 2009. En esta oportunidad se presentó la conferencia titulada "Comparación de dos metodologías de diagnóstico para la detección del virus del cuero de sapo de la yuca (VCSY)" .



**Bienvenid@****Inicio | English**

La Reserva de Todas las Opciones

Solicitud de material
Ver su solicitud

Búsqueda de material
Volver a los resultados

Servicios
Base de datos de frijol
Base de datos de yuca
Base de datos de forrajes
Publicaciones

General
Acuerdo de acceso a la información
Acuerdo de transferencia de material
Noticias
Personal
Acerca de la unidad
Comentarios y sugerencias

Vínculos
CIAT
CGIAR
FAO
SINGER

Usuario: Graciela Mafla
Solicitud:

Número de accesoión	Eliminar
MEX 23	☐
Eliminar	

Propósito:

☐ Acepto **Acuerdo de transferencia de material**

Forma de aceptación:

Enviar solicitud

Volver a los resultados | **Nueva búsqueda** | **Perfeccione su búsqueda**



Bienvenid@

[Inicio](#) | [English](#)

La Reserva de Todas las Opciones

Solicitud de material

[Ver su solicitud](#)

Búsqueda de material

[Volver a los resultados](#)

Servicios

[Base de datos de frijol](#)

[Base de datos de yuca](#)

[Base de datos de forrajes](#)

[Publicaciones](#)

General

[Acuerdo de acceso a la información](#)

[Acuerdo de transferencia de material](#)

[Noticias](#)

[Personal](#)

[Acerca de la unidad](#)

[Comentarios y sugerencias](#)

Vínculos

[CIAT](#)

[CGIAR](#)

[FAO](#)

Usuario: Graciela Mafla

[\[Actualizar\]](#) [\[Salir\]](#)

Resultado(s) de la búsqueda de yuca (1 - 1 de 1):

[¿Cómo solicitar material?](#)

Identificación			Información de recolección								Información de colección
Número de accesión	Sinónimos	Nombres comunes	País	Departamento	Municipio	Sitio	Fecha de recolección (dd-mm-yyyy)	Altitud (msnm)	Latitud (decimal)	Longitud (decimal)	
MEX 23	BGM 0333, 001791, 023	Yuca Negra	Mexico	Tabasco	Huimanguillo	Los Naranjos	31-10-1970	50.0	17.8167	-93.4	

[Ver su solicitud](#) | [Nueva búsqueda](#) | [Perfeccione su búsqueda](#) | [Descargue su\(s\) resultado\(s\)](#)

Genetic Resources Unit - CIAT - Web: Cassava germplasm request

([Material transfer agreement](#) accepted online)

Request's information:

CIAT's request number:

Web's request number:

136

Date:

APR 28, 2008 7:57:30 AM

Purpose:

Improvement

Method of acceptance of the material transfer agreement:

Click wrap

Germplasm requested (total = 4):

Identification			Collection information		Ecological observations	Taxonomic information		Photo	
Accession number	Synonyms	Common names	Country	Date of collection (dd-mm-yyyy)	Biological status	Genus	Species	Seed/Plant	Herbarium
CG 1141- 1	CG 1141- 1	Ica-Costena	Colombia		Improved-Line (MEX 11xCOL 65)	Manihot	esculenta		
CM 2177- 2	CM 2177- 2	Cebucan	Colombia		Improved-Line (CM 430- 37x CM 840- 138)	Manihot	esculenta		
CR 1	CR 77	Cubana	Costa Rica		Landrace	Manihot	esculenta		
VIO XXX- 1					Wild	Manihot	violacea		

Requester's information:

Full name:

Angela Marcela Hernandez Arbelaez

E-mail:

a.hernandez@cgiar.org

Institution:

Centro Internacional de Agricultura Tropical

Institution type:

CGIAR Center

Contact phone number:

4450000

Delivery address:

Km 17 Via Cali Palmira - Palmira (Valle del Cauca), Colombia

Import permit required?:

No

Certificate about genetically modified organism(s) required?: No

Received by Graciela Mafla

Approved by Daniel Gabriel Debouck

Costo promedio de conservación de yuca

Conservación	Espacio /1 copia	No. muestras/clon	Control viabilidad (año)	Costo (US\$)
Colección campo	4.5-6 Ha	6 plantas	1.5	7.28
In vitro	42m ²	6 plantas	1-1.5	11.98
Crioconservación	1m ³	80-100 ápices	10	1.23
Crioconservación (con regeneración)				43.06



Fuente : Koo *et al*, 2004

CRECIMIENTO MINIMO

\$,



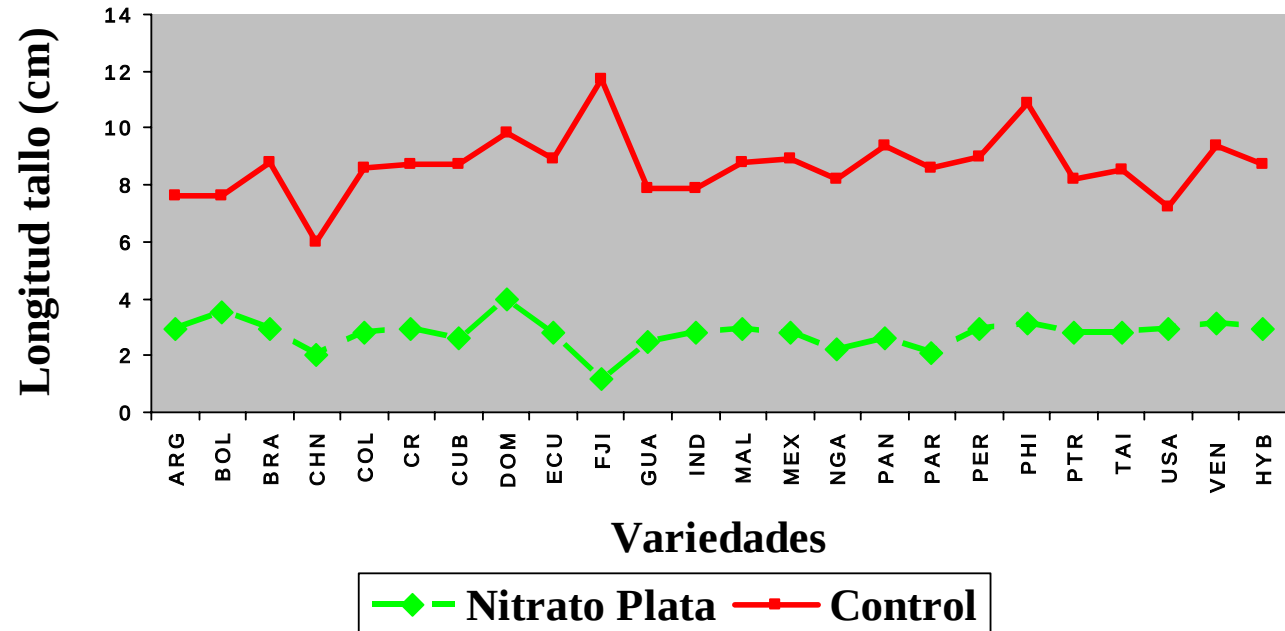
+++



Control



Nitrato
Plata



✓ Verificación estabilidad genética

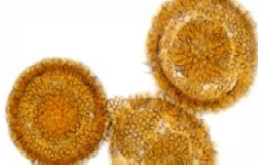
✓ Aumento tiempo conservación

✓ Duplicado seguridad colección

Fuente: Mafla *et al*, 2004

INVESTIGACIONES EN CURSO PARA *Manihot*

BANCO DE POLEN



- permite conservación a largo plazo
- posible uso en mejoramiento
- conserva genes, no genotipos
- en desarrollo experimental

BANCO DE ADN



- distribución internacional es permitida
- uso potencial en investigación
- uso limitado a estudios de genómica
- efectividad en costos

76-11
OBRIGADO

GRACIAS



gmafla@cgiar.org

www.ciat.cgiar.org/urg