

POSIBILIDADES DE EXPANSIÓN DEL CULTIVO DE YUCA (*MANIHOT ESCULENTUM* CRANTZ) EN EL CARIBE SECO COLOMBIANO A PARTIR DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA

POSSIBILITIES OF CASSAVA (*MANIHOT ESCULENTUM* CRANTZ) EXPANSION IN COLOMBIAN CARIBBEAN COAST DROUGHT ZONES BY MULTIDISCIPLINARY RESEARCH

Adriana Tofiño^{1,4}, Hernán Ceballos², Hernán M. Romero³

Resumen

En áreas donde la sequía es prolongada y el mayor limitante para el éxito de los cultivos alimenticios como los cereales, la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) se produce razonablemente bien por su fotosíntesis intermedia C3-C4. La yuca ha entrado en la economía de mercado moderno y es creciente su demanda en la utilización en alimentos procesados, alimentación animal, bioetanol, almidón y sus derivados y para muchas otras aplicaciones industriales. Un cambio a partir de las plantaciones tradicionales a pequeña escala para el mercado fresco, hacia plantaciones a gran escala para el abastecimiento de los centros de procesamiento, requiere incremento del rendimiento, calidad y estabilidad productiva. En Latinoamérica, aproximadamente el 45% del área total de cultivo de yuca proviene de zonas con estrés hídrico o con lluvias esporádicas. Adicionalmente, el potencial de expansión futuro del cultivo está ubicado en zonas marginales. A pesar que existe un amplio rango de variabilidad genética en la mayoría de los caracteres de tolerancia a la sequía en el germoplasma de yuca, la investigación multidisciplinaria, podría incrementar la eficacia en la selección de los mejores parentales y la pirimidación de genes que potencialicen las características fisiológicas de tolerancia a la sequía preexistentes en el genoma de la yuca. El objetivo de esta revisión es delinear las posibilidades de la investigación integrada de la fisiología, biotecnología y mejoramiento para potencializar las características de tolerancia a sequía en yuca.

Palabras clave: fotosíntesis neta, longevidad foliar, penetrancia radical, sequía, rendimiento de raíces, *Manihot*

Abstract

Where prolonged drought is a major constraint for the success of food crops such as cereals and cassava (*Manihot esculenta* Crantz) produce reasonably well where prolonged drought is a major constraint for their commercial success. In the case of cassava, this is due to its intermediate C3-C4 photosynthesis. Cassava has entered the modern market economy and has a growing demand for its use in processed food, animal feeding, ethanol production, starch and its derivatives, and for many different industrial applications. A shift from the traditional small-scale plantings for the fresh market to larger-scale plantings for factory sales requires increased yield, quality, and stability of production in drought-prone zones. In Latin America, approximately 45% of total cassava area comes from sub-humid zones or with sporadic rainfall. Moreover, expansion of this crop tends to occur in marginal lands. Although a wide range of genetic variability in most drought tolerant traits exists within cassava germoplasm, a multidisciplinary research could increase the efficiency for the selection of the best progenitors and gene pyramiding to increase preexisting drought tolerant physiological traits in cassava genome. The main goal of this review is to outline potential research on physiology, biotechnology, and breeding and their possibilities to improve traits to drought tolerance in cassava.

Key words: adaptation drought potential, leaf retention, *Manihot*, net leaf photosynthesis, root depth, water stress

¹ CORPOICA, Estación Experimental «Motilonia». Valledupar (Cesar), Colombia.

² Programa mejoramiento de yuca (CIAT). Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Cali (Valle del Cauca), Colombia.

³ Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Bogotá, D. C., Colombia.

Correo electrónico: ⁴ <atofino@corpoica.org.co>.

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es uno de los principales productos alimenticios para cerca de 600 millones de personas en África, Asia, y Latino América. La principal ventaja del cultivo sobre los cereales es la flexibilidad en el tiempo de cosecha, que lo convierte en un excelente recurso alimenticio contra el hambre (el-Sharkawy, 1993; Lenis et al., 2006). Las raíces de yuca, ricas en almidón, producen más colorías por unidad de área que cualquier otro cultivo a excepción de la caña. Desafortunadamente las raíces sólo contienen 1-2% de proteína cruda, en peso seco, y niveles bajos de la mayoría de los aminoácidos esenciales, lo cual limita su potencial nutricional. Sin embargo, recientemente se han identificado clones con tres veces los niveles normales de proteína (Ceballos et al., 2006; Sautter et al., 2006).

También se ha incrementado en la actualidad el uso del follaje de yuca en la alimentación animal y se ha diversificado la utilidad potencial de raíces. Sin embargo, la utilización múltiple de la planta, requiere mayor rendimiento, estabilidad productiva y variabilidad en la calidad para disminuir costos de producción, impacto ambiental y/o aumentan el valor comercial de la cosecha (Sarathi y Basappa, 1996; Ceballos et al., 2006).

Recientemente se ha incrementado el interés en la producción de etanol a partir de diferentes fuentes vegetales celulósicas y amiláceas (Lin y Tanaka, 2006). Esta tendencia se observa actualmente en Colombia debido a la reciente legislación que exige 10% de etanol en la mezcla con gasolina. En el país se ha trabajado en diferentes cultivos para este propósito como caña de azúcar, remolacha, trigo, etc. Sin embargo, el cultivo más rústico y de mayor posibilidad de expansión bajo factores bióticos y abióticos tropicales limitantes es la yuca. En Colombia funcionan diferentes fábricas de etanol a base de yuca como Petrotesting colombiana, cuyas plantas producen (litros/tonelada) 180 a 200 l/ton de yuca. La competitividad de esta industria depende de la siembra a gran escala de

genotipos con 30 ton/ha de rendimiento potencial en tierras con baja fertilidad, disponibilidad hídrica e insumos adecuados, que además constituyen el principal potencial de expansión futura.

El cambio en el sistema productivo para suplir la demanda nacional de materia prima, requiere el incremento en la tolerancia a la sequía y a la baja fertilidad del suelo (Kawano et al., 1998; el-Sharkawy 1993; el-Sharkawy, 2004; Zhang et al., 2000). En condiciones experimentales la yuca rinde hasta 90 t/ha de raíces y 25-30 t/ha de materia seca. Sin embargo el rendimiento promedio, de 10,5 t/ha en Colombia, es insuficiente para suplir la demanda de las agrocadenas de yuca y la creciente demanda de bioetanol (CIAT, 2005; Kawano et al., 1998; EL-Sharkawy y Cadavid, 2002; Calatayud et al., 2000).

Por otro lado, se presentan pérdidas adicionales debido al deterioro postcosecha que se manifiesta 24 horas después de la cosecha en forma de coloraciones negruzcas a pardas en todo el perímetro de la raíz, especialmente en la zona de los tejidos vasculares (Cortés et al., 2002; Sánchez et al., 2006). A la fecha se han obtenido resultados significativos en la solución de estos problemas bajo condiciones óptimas de cultivo mediante el mejoramiento convencional. Sin embargo es menor el avance en la optimización del cultivo bajo limitantes abióticos como la sequía, entre otros (Ceballos et al., 2004; Kawano et al., 1998; Mejía de Tafur et al., 1997b; Zhang, 2000;).

Para ayudar a los mejoradores a superar estos obstáculos, se están implementando diversas estrategias biotecnológicas para identificar genes de características claves asociadas con la resistencia a los factores limitantes del rendimiento (Anderson et al., 2004).

A partir de lo anterior se desprende que, es necesario llamar la atención de los Centros de Investigación en Colombia con proyectos de yuca, pues no es suficiente la inclusión de tecnología de punta

en la investigación, para cambiar el panorama del cultivo en el país. Se requiere en primera instancia la unificación de los esfuerzos investigativos en la búsqueda de variedades mejor adaptadas, con características deseables específicas dentro de un paquete tecnológico apropiado para cada sistema productivo y con capacidad para suplir, por ejemplo, las necesidades industriales de la costa norte colombiana. También es de relevancia que el desarrollo de paquetes tecnológicos además de potencializar las cualidades genéticas de los nuevos materiales, minimice el impacto ambiental.

Por último para garantizar la adopción de la innovación tecnológica, deben vincularse los beneficiarios en la formulación de los objetivos de los proyectos de investigación, incentivar el mejoramiento participativo y generalizar el enfoque orientado a los mercados. Mediante la combinación de estas estrategias se promoverá el desarrollo de la industria yucaera y se avanzará en la expansión del mercado nacional y el mercado global, ávido de productos exóticos, especialmente aquellos vinculados a mercados verdes producidos en zonas de conflicto (Schurman, 2005; Magnaghi, 2005).

El objetivo de esta revisión es ofrecer una panorámica del estado del arte de la investigación en fisiología, mejoramiento y biotecnología y sus posibilidades conjuntas para potencializar características fotosintéticas y productivas de tolerancia a la desecación, en variedades comerciales de yuca. Se consideran además las peculiaridades fisiológicas y bioquímicas naturales de la yuca para tolerar el estrés por déficit hídrico. Finalmente se proponen algunas estrategias investigativas para superar los limitantes de la expansión del cultivo de yuca en el trópico seco.

EFFECTOS DE LA SEQUÍA SOBRE EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS

La sequía y la salinidad ocasionan pérdidas en el rendimiento de cultivos de más del 50% alrededor del mundo (Jauhar, 2006). La respuesta a los

limitantes abióticos en las plantas ocurre mediante cambios en la actividad enzimática y la expresión genética, asociadas con modificaciones en la condensación de la cromatina y actividad de factores de transcripción. De acuerdo con lo anterior, la velocidad de traducción de proteínas de la sequía, está relacionada con la adaptación fisiológica de la planta a la desecación (Chen et al., 2005; Rehman et al., 2005).

La sequía afecta además, diferentes aspectos del desarrollo de las plantas producto de la modificación en la partición de biomasa, la dinámica del metabolismo y la composición relativa de productos metabólicos, programación mitótica y de diferenciación celular (Pospíšilová, 2003; Alves y Setter, 2000; Grover et al., 2001). En yuca específicamente, la sequía produce disminución en la producción, tamaño foliar y aumento de la retención de las hojas formadas bajo estrés. La retención foliar está correlacionada con el incremento del rendimiento de raíces, biomasa total e índice de cosecha (Alves y Setter, 2000; Lenis et al., 2006; Pérez et al., 2005). Simultáneamente se presentan modificaciones en la bioquímica foliar relacionada con el contenido de clorofila, ruta del carbono, el nitrógeno y el incremento de la actividad de PEPC (Sundaresan y Sudhakaran, 1995; Calatayalud et al 1998; Lahai et al., 2003).

CARACTERÍSTICAS FOTOSINTÉTICAS DE LA YUCA

La planta ajusta su eficiencia fotosintética a la fluctuación de factores como máxima intensidad lumínica, temperatura, estado fisiológico, factores genéticos y regulación estomática dependiente del estado hídrico del continuo suelo-planta-atmósfera (Mejía de Tafur, 2002). El éxito de la yuca para soportar el estrés hídrico es su capacidad para regular rápidamente numerosos procesos metabólicos frente a cambios de condiciones ambientales favorables a desfavorables (Alves y Setter, 2000).

La plasticidad de adaptación a la sequía y altas temperaturas del genoma de la yuca está asociada con características fotosintéticas intermedias, cuya naturaleza sigue siendo debatida en la actualidad por algunos grupos de investigación. Se ha propuesto que los genes específicos C4 provienen de un grupo de genes contraparte preexistente en plantas ancestrales C3, con algunas modificaciones en los patrones de expresión en las hojas y propiedades cinéticas. Las Euforbiaceae agrupan especies que exhiben rutas C3, C4 y CAM y en especial algunos miembros *Manihot* podrían ejemplificar estados transicionales en la evolución de las C4 a partir de las C3 (Sage, 2004; Nomura et al., 2000). Los detractores de la capacidad bioquímica C4 de la yuca y las silvestres relacionadas se basan en la carencia de anatomía Kranz, el valor de K_m (CO_2) y otros criterios cinéticos de RUBISCO similares a los de las especies C3. Sin embargo, la yuca posee elevada actividad de PEPC (30-35% de la registrada en maíz) y características de intercambio gaseoso similares al maíz y bajo punto de compensación. Se ha sugerido además, que la yuca puede funcionar tanto por la ruta bioquímica C3 como por C4 dependiendo de la temperatura. En condiciones de baja temperatura predomina la formación de ácidos tricarbónicos y a mayores temperaturas se incrementa la síntesis de ácidos de 4 carbonos (Edwards et al., 1990; Angelov et al., 1993; el-Sharkawy, 2004). Adicionalmente se ha identificado correlación altamente significativa entre fotosíntesis neta y rendimiento de raíces secas (el-Sharkawy, 2004; el-Sharkawy, 1993).

La planta de yuca es altamente susceptible a la sequía entre el 2 y 5 mes de edad, durante los cuales ocasiona reducción en la producción hasta de 80% (Cayón et al., 1997). Sin embargo, cuando el estrés hídrico se presenta después del 5 mes la reducción es solamente de 20%. El cultivo utiliza eficientemente el agua pues el cierre estomático bajo aire seco durante periodos largos de sequía, disminuye la evapotranspiración y el agua disponible en el suelo puede asimilarse lentamente gracias al sistema radi-

cal disperso y profundo (Ceballos et al., 2004; DeTafur et al., 1997; Baker et al., 1989; el-Sharkawy, 2004). Se ha registrado además el efecto del estrés hídrico sobre la extracción final y concentración de nutrimentos en varios órganos de la planta (el-Sharkawy y Cadavid, 2002).

También se ha encontrado que la tasa fotosintética, disminuye notablemente durante periodos de sequía y que la magnitud del efecto depende del estado nutricional, intensidad lumínica, genotipo y concentración sub-estomática de CO_2 (Mejía de Tafur et al., 1997a). Las variedades de yuca con adaptabilidad a la sequía evaden la inactivación de la fotosíntesis neta por alta irradiancia mediante una fuerte respuesta heliotrópica y la activación de la inclinación en las hojas jóvenes, que adicionalmente presentan mayor capacidad fotosintética que las producidas bajo suficiencia hídrica (Calatayud et al., 2000; el-Sharkawy, 2004; Cayón et al., 1997).

ESTRATEGIA PARA IDENTIFICAR GENOTIPOS DE YUCA TOLERANTES A LA SEQUÍA

La tolerancia potencial del cultivo a las limitaciones ambientales permite la formación de raíces de almacenamiento. Sin embargo el sistema productivo en zonas marginales con baja tecnificación posibilita solamente la agricultura de subsistencia (Kawano et al., 1998). Una estrategia agronómica viable para garantizar el rendimiento de yuca bajo sequía implica el suplemento hídrico al menos durante la etapa inicial de crecimiento (4 meses), fertilización adecuada, selección de variedades con rasgos de adaptación a sequía y prácticas culturales que promuevan el movimiento del agua en el suelo hacia las raíces como labranza mínima, coberturas vegetales de raíces superficiales, riego por aspersión, etc. Se sugiere además adaptar la programación de siembra y cosecha de acuerdo con la temporada de lluvias para evitar la reducción drástica del rendimiento y deterioro de la cantidad y calidad del almidón (Sriroth et al., 2001).

Una estrategia sugerida de corto plazo para la selección eficiente de genotipos tolerantes a la sequía implica además de la caracterización morfológica de caracteres de interés, la utilización de análisis bioquímicos y fisiológicos que disminuyan el efecto de la interacción genotipo-ambiente en la selección de parentales. El análisis morfológico incluye rasgos como almacenamiento temprano, raíces profundas y dispersas, brote con poca biomasa, índice de área foliar óptima, rendimiento y contenido de materia seca elevados. Adicionalmente deben analizarse características relacionadas con el valor agregado de raíces o follaje como estrategia para lograr un balance entre cantidad y calidad de la materia prima producida en ambientes sub-húmedos, como contenido alto de proteína, carotenos, de hierro y zinc, acianogénesis, bajo contenido de amilosa o amilopectina, raíces azucaradas, variabilidad en la morfología de los gránulos de almidón y su grado de fosforilación. La estabilidad de las características del almidón entre suficiencia hídrica y sequía pueden evaluarse mediante viscoamilogramas de BRAVENDER o analizador rápido de viscosidad (RVA) (CIAT, 2005).

Los análisis fisiológicos complementarios al análisis fenotípico están asociados con duración de la lámina foliar, índice de cosecha, cuantificación de la respuesta heliotrópica de las hojas jóvenes bajo sequía y cuantificación del efecto de la desecación y la alta temperatura sobre la fotosíntesis. La capacidad fotosintética bajo sequía depende de la conductancia estomática, fluorescencia de la clorofila e intercambio gaseoso que pueden evaluarse mediante analizador infrarrojo de gases (LI-COR). El análisis bioquímico sugerido mediante SDS page, espectrofotometría y cromatografía, incluye cuantificación bajo sequía del nivel de proteína, pigmentos, azúcares y actividad de enzimas claves de la fotosíntesis como PEPC, RUBISCO y PPDK. También es de relevancia la cuantificación de la velocidad de acumulación de ABA mediante HPLC y ELISA (Ramírez, 2004).

Dado que la acumulación de nutrientes es una estrategia de ajuste osmótico de importancia para la adaptación a la sequía, podría ser de relevancia el estudio de la cinética Michaeliana de los transportadores de nitrógeno y potasio, elementos claves en el desarrollo de la planta. Este tipo de estudios permitirían la identificación de genotipos con mayor variabilidad en la absorción bajo diferentes concentraciones de los elementos en suelo y así garantizar el aprovechamiento eficiente de nutrientes disponibles. A partir de estos análisis pueden seleccionarse variedades para el trabajo de transferencia tecnológica a pequeños productores, genotipos apropiados para explotación industrial y la identificación de clones promisorios para ampliar la base genética de los proyectos de mejoramiento para zonas secas.

MEJORAMIENTO PARA LA TOLERANCIA A LA SEQUÍA EN YUCA

Diversos caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos con diferentes patrones de herencia y acción génica, confieren resistencia a la sequía. El mejoramiento genético de adaptación a la desecación se obtiene mediante la selección por rendimiento y estabilidad a través de localidades y años. Los principales caracteres ligados a la estabilidad del rendimiento bajo estrés presentan variación continua al analizarse en poblaciones segregantes y actualmente están bajo análisis marcadores moleculares y QTLs (Quantitative Trait Loci) ligados a caracteres radicales y ajuste osmótico (Chinnusamy et al., 2005; Rehman et al., 2005).

El mejoramiento de yuca en los últimos treinta años ha logrado la combinación de rasgos mayores. Sin embargo, el avance en el incremento del rendimiento, calidad de raíz y resistencia a los limitantes ambientales en yuca, es extremadamente lento debido al ciclo de crecimiento largo, fondo genético heterocigoto, características biológicas intrínsecas y conocimiento incipiente de la organización de la diversidad del cultivo (Ceballos, et al., 2004; Kawano et al., 1998; Fregene et al., 1997).

Una estrategia de mejoramiento sugerida para la tolerancia a la sequía, requiere la identificación cuidadosa de genotipos contrastantes, de las características relacionadas con la tolerancia a la limitación hídrica, para el desarrollo de marcadores moleculares y estudios genéticos que revelen la acción génica predominante en cada carácter y los mecanismos probables de tolerancia a los que están asociados. La determinación de la acción génica predominante mediante estudios de media generacional, por ejemplo, serviría como indicador del esquema apropiado para el mejoramiento del carácter específico. Los resultados de los análisis genéticos mencionados, se compararían con los registrados en plantas modelo completamente secuenciadas como *Arabidopsis* y arroz, para avanzar en la comprensión de los mecanismos moleculares y la ruta de señalización asociada con la tolerancia a la sequía en yuca. Los genotipos contrastantes podrían cruzarse para generar poblaciones segregantes que adicionalmente se someterían a un ciclo de endogamia para eliminar la carga genética indeseable.

Para obtener mayor precisión en la identificación de progenitores e incrementar sustancialmente la ganancia genética pueden combinarse datos de promedio de cruza y valores genéticos, suplementados con selección asistida por marcadores moleculares (MAS). Las características relacionadas con los mecanismos conocidos de tolerancia a la sequía mencionados anteriormente, se evalúan en los genotipos contrastantes y se escogen los caracteres con mayor asociación con estabilidad, incremento del rendimiento bajo estrés hídrico y persistencia de las características normales o atípicas de viscosidad e hidratación del almidón producido bajo sequía.

Estas variables se analizan en las poblaciones segregantes a través de pruebas regionales en zonas representativas de la costa colombiana, propensas a la sequía para mapeo por QTLs. Adicionalmente, se analizan las progenies bajo suplemento hídrico moderado para seleccionar líneas

con buen nivel de plasticidad, que garanticen estabilidad productiva. Se han desarrollado diferentes trabajos de QTLs mediante AFLP, SSP, entre otras técnicas. Sin embargo los marcadores moleculares más utilizados y apropiados para este análisis, a pesar de su relativo alto costo, son los microsatélites. Debido principalmente a la estandarización plena de este marcador en el cultivo y a las características de repetitibilidad y codominancia. Adicionalmente el uso de software especializados facilita la síntesis de nuevas secuencias flanqueantes, a partir de segmentos clonados provenientes de librerías BAC y secuencias expresables TAG. Mediante este marcador molecular se está saturando el mapa físico de yuca (Chavarriaga et al., 1998; Fregene et al., 1997; Fregene et al., 2001).

EFFECTO DE LA TRANSFORMACIÓN GENÉTICA SOBRE LA TOLERANCIA A SEQUÍA EN YUCA

La ingeniería genética brinda la posibilidad de crear nueva variación genética. El aporte dado por la genómica, la mutagénesis y las herramientas biotecnológicas en general, a la comprensión de la expresión genética, la regulación transcripcional y la red de señales de transducción de la respuesta a la sequía en las plantas, ha favorecido la identificación y utilización por la ingeniería genética de genes activadores de rutas específicas o generales del estrés por sequía (Umezawa et al., 2006). Por lo tanto, la ingeniería genética ha utilizado la inserción de genes cuyos productos están asociados con la respuesta o la tolerancia al estrés hídrico. Son de especial relevancia los resultados obtenidos en la modificación de la regulación transcripcional de la expresión genética en respuesta a la sequía, mediante la transformación con genes que codifican diversos factores de transcripción como DREB1/CBF y DREB2 (Nakashima et al., 2005; Yamaguchi y Shirozaki, 2006).

En este sentido, se han registrado resultados importantes en el incremento de la tolerancia a la desecación y a las bajas temperaturas, a partir de la

transformación con genes individuales relacionados con la respuesta específica a la sequía o al frío dependientes e independientes de ABA (Chinnusamy et al., 2005; Yamaguchi et al., 2006). Por ejemplo, se ha registrado el incremento en la respuesta al estrés osmótico en pastos y arroz a partir de la inserción de transgenes individuales relacionados con la ruta biosintética o con el efecto de ABA sobre el cierre estomático. De lo anterior se desprende que la eficacia de la transformación es superior, cuando se utilizan genes mayores como 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa, asociado con uno de los pasos limitantes de la ruta biosintética de ABA. De igual forma el factor de transcripción *SNAC1*, asociado con la sensibilidad de las células guardas a ABA, disminuye la excesiva evapotranspiración durante la sequía (Aswath et al., 2005; Hu et al., 2006).

Sin embargo, la principal desventaja de esta técnica es la dificultad en la identificación del blanco genético más eficaz pues a pesar que se han obtenido avances importantes en el ajuste de la respuesta de tolerancia a sequía a partir de la inserción de un solo gen en diversos cultivos (factores de transcripción) en algunos casos se obtiene una modificación poco significativa del metabolismo general de tolerancia al estrés, debido probablemente al tipo de herencia cuantitativa asociada con la tolerancia a la sequía. Adicionalmente se requiere intensificar el trabajo de identificación de promotores órgano específicos para aumentar el alcance de la modificación metabólica a partir de la expresión del transgen (Cheng et al., 2005; Chinnusamy et al., 2005; Rehman et al., 2005).

De lo anterior se desprende que el éxito contundente de la ingeniería genética para el mejoramiento de la tolerancia al estrés requiere investigación previa exhaustiva para la identificación de genes mayores de la ruta de respuesta específica al estrés por desecación o de la respuesta general al estrés, para garantizar la modificación metabólica significativa en las plantas a partir de la inserción de un gen individual. Por otro lado, para abordar la naturaleza cuantitativa de la expresión del estrés hídrico

e incrementar el alcance de la ingeniería genética de cultivos, sería de gran importancia el desarrollo de vectores binarios o mini cromosomas para la transferencia de genes múltiples y el refinamiento de los sistemas actuales de transformación-regeneración (Rehman et al., 2005; Chinnusamy et al., 2005).

En la actualidad se está trabajando activamente en Ingeniería genética en el germoplasma de yuca y están bajo evaluación protocolos de transformación más eficientes (Taylor et al., 2004). El cultivo de tejidos, sistemas de transferencia genética, la inserción de genes foráneos, genes antisentido y RNA de interferencia, se utilizan para incrementar la resistencia a limitantes abióticos, mejoramiento del contenido nutricional, modificación del metabolismo del almidón y reducción del contenido de cianógenos (Santisopasri, et al., 2001; Zhang y Gruissem, 2004; Zhang et al., 2000; Siritunga y Sayre, 2004; Fofana et al., 2004; Raemakers et al., 2005; Jorgensen et al., 2005).

A pesar que el germoplasma de yuca presenta variabilidad en muchos rasgos que contribuyen a la productividad en zonas áridas o de régimen hídrico irregular, la obtención de progenies segregantes es lenta lo cual limita la hibridación y la consecuente transmisión de genes de tolerancia al estrés. Por lo tanto se requiere el aporte de la ingeniería genética para la inserción del constructo *Apétala1* etanol inducible de *Arabidopsis* en yuca, a partir del cual se espera sincronizar la floración de parentales tolerantes y así, contribuir a solucionar este limitante. Actualmente se están propagando en invernadero individuos modificados para trabajos de campo de verificación del efecto del transgen (CIAT, 2005).

Un esquema ideal de Ingeniería genética basado en las características fisiológicas de la yuca, deberá aprovechar la correlación positiva entre capacidad fotosintética y rendimiento, además del aumento del flujo del carbono en las hojas jóvenes a través de la ruta C4 bajo estrés hídrico. De acuerdo con este orden de ideas, se podrían insertar transgenes con expresión y actividad incrementada de las enzimas

claves de la productividad en la fuente (el-Sharkawy, 2004). Las especies aportantes ideales de estos genes, podrían ser las silvestres relacionadas de yuca, que presentan actividad elevada de enzimas de la ruta C4, pues se ha encontrado en transgenes fotosintéticos de gramíneas que el efecto metabólico es significativo cuando las especies son cercanas filogenéticamente (Matsuoka et al., 2001; Nomura et al., 2000; Ku, 2000). Se requeriría además la inserción de genes que codifiquen solutos compatibles como *mtlD* de *Escherichia coli* y *hva1* o proteínas del estrés por calor (HSPs) (Jauhar, 2006). La inserción de estos transgenes garantizaría la integridad de los sistemas enzimáticos de la fuente y la demanda, disminución de cambios en la calidad de panificación y estabilización general de la biosíntesis de almidón y proteína bajo estrés hídrico (Rehmann et al., 2005).

Uno de los principales problemas de la Ingeniería genética radica en que la alteración del flujo metabólico puede inhibir la actividad de enzimas alostéricas por altas concentraciones de sustrato o producto, lo cual ocasiona que el efecto del transgen sea menor al esperado. El metabolismo de la sacarosa y almidón en la fuente son especialmente influenciados por una red compleja de sistemas reguladores (Tofiño et al., 2006). Por lo tanto el incremento de fijación de carbono en la fuente requeriría modificaciones simultáneas en las características cinéticas de algunas enzimas relacionadas con la síntesis de sacarosa como la sacarosa fosfatosintetasa, sacarosa 6 fosfato fosfatasa (Chen et al., 2005) y fructosa-1,6- bifosfato fosfatasa (FBPasa) (Sahrawy et al., 2004), para disminuir el efecto inhibitorio de la concentración citosólica de sacarosa y azúcares del pool de hexosas en el citosol. La producción incrementada de sacarosa debe acompañarse con la expresión incrementada de transportadores azúcar- protón en la carga del floema (SUT11 o SUC2) y transportadores azúcar-H⁺ en la descarga del floema en la demanda (Eisenbarth y Weig, 2005).

Para mantener la potencia e incrementar el almacenamiento de almidón en la demanda se necesitaría incrementar la actividad de enzimas limitantes en la síntesis del almidón como AGPasa (Denyer et al., 2001). Una alternativa para disminuir el deterioro de la calidad del almidón por la degradación de las reservas de la raíz cuando se renueva el suplemento hídrico, podría ser la expresión incrementada de GWD e isoamilasa 1, asociadas a los primeros pasos en la degradación del gránulo de almidón, unido a promotores organoespecíficos para incrementar la degradación del almidón en los tallos y retrasar o disminuir la degradación del almidón en las raíces (Smith, 2005). Finalmente la inserción antisentido de los genes implicados en la ruta biosintética del almidón como SS, GBSSI, SBE y enzima P afecta la estructura del almidón y genera variabilidad en su utilidad potencial (Jobling, 2004). De acuerdo con lo anterior, solamente a partir de la inserción en variedades comerciales de genes múltiples o individuales de acción pleiotrópica positiva sobre las características deseables de yuca, se lograría el impacto productivo y de valor agregado requerido en zonas áridas (Raemarkers et al., 2005; Rai et al., 2001).

POSIBILIDADES DE LA MUTAGÉNESIS EN EL MEJORAMIENTO DE LA TOLERANCIA AL ESTRÉS EN YUCA

La principal estrategia en el mejoramiento basado en mutación, ha sido la utilización de variedades bien adaptadas en las que se han alterado uno o dos rasgos mayores o la modificación de genes individuales de acción pleiotrópica, que limitan la productividad o el valor cualitativo. Se ha sugerido recientemente que la identificación y piramidación de genes mutantes inducidos, constituyen un nuevo enfoque para el mejoramiento, al igual que la mutación recurrente (Ahloowalia et al, 2004; Otani et al., 2006; Spencer, 2006; Chen et al., 2006; Rai et al., 2001).

El mejoramiento genético basado en mutagénesis presenta grandes ventajas con respecto a los dife-

rentes esquemas de mejoramiento convencional para romper complejos de ligamiento y la transformación genética. Por ejemplo, la posibilidad de mejoramiento individual de rasgos estrechamente relacionados, cuya ruptura por recombinación es difícil; la producción de variaciones en rasgos múltiples dentro de la misma población irradiada y la obtención de líneas estables derivadas de mutantes en generaciones tempranas (Lagoda, 2004; Do et al., 2006; Wu et al., 2005). La desventaja de la mutagénesis inducida con respecto a la Ingeniería genética es que a diferencia de los transgenes de expresión dominante, las mutaciones generalmente son heterólogas y la primera generación de materiales irradiados presenta quimeras o alteraciones fisiológicas sin penetrancia y expresividad en las generaciones siguientes (Archana et al., 2004). Por lo tanto se requiere además de caracterizaciones morfológicas y bioquímicas exhaustivas, técnicas moleculares como repeticiones de secuencias simples (SSRs), análisis de polimorfismo de un solo nucleótido (SNPs) y lesiones inducidas dirigidas localmente en el genoma (TILLING) para la identificación de mutantes deseables dentro de la población (Wu et al., 2005; Changjie et al., 2006; Caetano-Anollés et al., 1999; Henikoff et al., 2004).

En yuca se ha trabajado en mutagénesis para aumentar la potencia de la demanda, en la búsqueda de almidones con características industriales específicas y en la estandarización de la dosis óptima de radiación de plantas *in vitro* (Cheng y Chandlee, 1999; Joseph et al., 2004; Otani et al., 2006; Lagoda, 2004). También se ha utilizado la mutación inducida, especialmente los rayos gamma, para incrementar notoriamente la tolerancia a la sequía en diferentes especies como arroz, soya, garbanzo y papa. Sin embargo se requiere una población irradiada de gran tamaño y estudios durante varias generaciones para identificar y estabilizar la mutación. Por ejemplo en arroz se obtuvieron líneas mutantes promisorias con tolerancia a la sequía y suelo ácido en la generación M7, obtenida a partir de 15.000 semillas irradiadas con rayos Gamma (Do et al., 2006; IAEA, 1998; Spencer, 2006).

Un esquema sugerido para el mejoramiento de yuca en zonas secas, requeriría la irradiación con rayos gamma de cultivos de microsporas de variedades altamente productivas, y de resistencia verificada a la autofecundación (Ceballos et al., 2004) para la posterior producción de poblaciones doble haploides (DH) mutagenizadas, en las que la identificación de rasgos deseables en la generación (M2) sería más sencilla, debido a la expresión fenotípica de la mutación. El análisis inicial de tolerancia a la sequía podría realizarse mediante la exposición de las plantas a medios con presión osmótica elevada e inducir de este modo sequía fisiológica del medio de cultivo *in vitro* para facilitar la evaluación de gran número de individuos y ahorrar un ciclo en campo (Joseph et al., 2004).

En los genotipos seleccionados se realizarían caracterizaciones morfológicas y bioquímicas para la identificación de rasgos específicos de adaptación a sequía. La caracterización molecular para encontrar los genes defectuosos posibles se realizaría mediante TILLING, análisis de expresión como hibridización *In situ*, Northern blot y actividad enzimática.

Una vez identificados los genes que codifican los diferentes rasgos que le confieren tolerancia a los genotipos, se llevan a pruebas regionales en diferentes zonas representativas de sequía al menos durante 2 ciclos, para determinar la estabilidad de los rasgos mutantes. Los clones más estables se llevan a campos de hibridación en búsqueda de la acumulación de rasgos deseables pues, aunque es bien conocida la herencia cuantitativa de la resistencia a sequía no puede descartarse de plano la posible acción de algunos genes mayores asociados con otros modificadores. Por lo tanto la acumulación de genes mayores podría incrementar marcadamente la expresión de la respuesta de las plantas a la desecación.

El mejoramiento de yuca basado en mutagénesis ofrece opciones únicas para incrementar la toleran-

cia al estrés hídrico especialmente, sobre la calidad de los productos, pues se han encontrado correlaciones genéticas positivas entre rasgos deseables e indeseables derivados del efecto de la sequía sobre las raíces, que pueden modificarse individualmente por mutación inducida como la interacción entre contenido de materia seca, contenido de minerales y deterioro fisiológico (Sánchez et al., 2006). Adicionalmente, posibles mutacio-

nes que disminuyan la cinética Michaeliana de los complejos enzimáticos más activos implicados en el deterioro postcosecha como ATP asas y peroxidasas podrían inhibir o retrasar el proceso (Isamah, 2004). Estas asociaciones genéticas indeseables representan una limitación para la biofortificación del cultivo por mejoramiento tradicional y constituye en uno de los objetivos de la selección en poblaciones mutantes.

REFERENCIAS

- Ahloowalia B, Maluszynski M, Nichterlein K. 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135:187-204.
- Alves A, Setter T. 2000. Response of cassava to water deficit: Leaf area growth and abscisic acid. *Crop Science*, 40:131-137.
- Anderson J, Delseny M, Fregene M, Jorge V, Mba C, Lopez C, Restrepo S, Soto M, Piegu B, Verdier V, Cooke R, Tohme J, Horvath D. 2004. An EST resource for cassava and other species of Euphorbiaceae. *Plant Molecular Biology*, 56(4):527-539.
- Angelov M, Sun J, Byrd G, Brown R, Black C. 1993. Novel characteristics of cassava, *Manihot esculenta* Crantz, a reputed C₃-C₄ intermediate photosynthesis species. *Photosynthesis Research*, 38(1):61-72.
- Archana P, Taware S, Raut V. 2004. Induced variation in quantitative traits due to physical (gamma rays), chemical (EMS) and combined mutagen treatments in soybean [*Glycine max* (L.)Merrill]. *Soybean Genetics Newsletter*, 31:49-58.
- Aswath C, Kim SH, Mo SY, Kim DH. 2005. Transgenic plants of creeping bent grass harbouring the stress inducible gene, 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, are highly tolerant to drought and NaCl stress. *Plant Growth Regulation*, 47:129-139.
- Baker G, Fukai S, Wilson G. 1989. The response of cassava to water deficits at various stages of growth in the subtropics. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40(3):517-528.
- Caetano-Anollés G, Bassam B, Gresshoff P. 1993. Enhanced detection of polymorphic DNA by multiple arbitrary amplicon profiling of endonuclease-digested DNA: identification of markers tightly linked to the supernodulation locus in soybean. *Molecular Genetics*, 241(1-2):57-64.
- Calatayud P, Duchon S, Lamaze T. 1998. Estimation of carbon and nitrogen modification during water deficiency in leaves of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Brasileira da Mandioca*, 17:39-47.
- Calatayud P, Llovera E, Bois J, Lamaze T. 2000. Photosynthesis in drought-adapted cassava. *Photosynthetica*, 38:97-104.
- Cayón M, el-Sharkawy M, Cadavid L. 1997. Leaf gas exchange of cassava as affected by quality of planting material and water stress. *Photosynthetica*, 34(3):409-418.
- Ceballos H, Iglesias C, Pérez J, Dixon A. 2004. Cassava breeding: opportunities and challenges. *Plant Molecular Biology*, 56(4):503-516.
- Ceballos H, Fregene M, Lentini Z, Sanchez T, Puentes Y, Pérez J, Rosero A, Tofiño, A. 2006. Development and identification of high-value cassava clones. *Acta Horticulturae*, 703:63-70.
- CIAT. 2005. *Project IP3, Improved cassava for the developing World, annual report, 2005*. Cali, Colombia.
- Cortés D, Reilly K, Okogbenin E, Beeching J, Iglesias C, Tohme J. 2002. Mapping wound-response genes involved in post-harvest physiological deterioration (PPD) of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Euphytica*, 128(1):47-53.
- Changjie Y, Song Y, Zhengqiu Z, Guohua L, Jufei L, Minghong G. 2006. Genetic analysis and gene fine mapping for a rice novel mutant (rl_{9(t)}) with rolling leaf character. *Chinese Science Bulletin*, 51(1):63-69.
- Chavarriaga P, Maya M, Bonierbale M, Kresovich S, Fregene M, Tohme J, Kochert G. 1998. Microsatellites in cassava (*Manihot esculenta* Crantz): discovery, inheritance and variability. *Theoretical Applied Genetic*, 97:493-501.
- Chen Shuai, Mohammad H, Peisker H, Tschiersch U, Sonnewald F, Börnke F. 2005. Decreased sucrose-6-phosphate phosphatase level in transgenic tobacco inhibits photosynthesis, alters carbohydrate partitioning, and reduces growth. *Planta*, 221:479-492.
- Cheng T, Chandlee F. 1999. The structural, biochemical, and genetic characterization of a new radiation-

- induced, variegated leaf mutant of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] a soybean leaf variegated mutant. *Proceedings of the National Science Council Republic of China*, 23(1):27-37.
- Cheng L, Zhou R, Reidel E, Sharkey T, Dandekar A.** 2005. Antisense inhibition of sorbitol synthesis leads to up-regulation of starch synthesis without altering CO₂ assimilation in apple leaves. *Planta*, 220(5):767-776.
- Chinnusamy V, Xiong L, Zhu JK.** 2005. Use of genetic engineering and molecular biology approaches for crop improvement for stress environments. Pp. 47-95. *En: Ashraf M, Harris PJ (eds.). Abiotic stresses plant resistance through breeding and molecular approaches.* Food Products Press. Binghamton (NY), U. S. A.
- Denyer K, Johnson P, Zeeman S, Smith A.** 2001. The control of amylose synthesis. *Journal of Plant Physiology*, 158:479-487.
- Do K, Dao M, Hung P, Nguyen T.** 2006. Rice mutation improvement for short duration, high yield and tolerance to adverse conditions in Mekong Delta of Viet Nam. *Plant Mutation Reports*, 1(1):49-52.
- Edwards G, Sheta E, Moore B, Dai Z, Franceschi V, Cheng S, Lin Ch, Ku M.** 1990. Photosynthetic characteristics of cassava (*Manihot esculentum* Crantz), a C₃ species with chlorenchymatous bundle sheath cells. *Plant and Cell Physiology*, 31(8):1199-1206.
- Eisenbarth D, Weig A.** 2005. Sucrose carrier rcsr1 is involved in sucrose retrieval, but not in sucrose unloading in growing hypocotyls of *Ricinus communis* L. *Plant Biology*, 7:98-103.
- el-Sharkawy M.** 1993. Drought-tolerant cassava for Africa, Asia, and Latin America. *BioScience*, 43(7):441-451.
- el-Sharkawy M, Cadavid L.** 2002. Response of cassava to prolonged water stress imposed at different stages of growth. *Experimental Agriculture*, 38:333-350.
- el-Sharkawy M.** 2004. Cassava biology and physiology. *Plant Molecular Biology*, 56(4):481-501.
- Fregene M, Angel F, Gomez R, Rodriguez F, Chavarriaga P, Roca W, Tohme J, Bonierbale M.** 1997. A molecular genetic map of cassava (*Manihot esculentum* Crantz). *Theoretical Applied Genetics*, 95(3):431-441.
- Fregene M, Okogbenin E, Mba C, Angel F, Suarez M, Gutierrez J, Chavarriaga P, Roca W, Bonierbale M, Tohme J.** 2001. Genome mapping in cassava improvement: Challenges, achievements, and opportunities. *Euphytica*, 120:159-165.
- Fofana I, Sangare A, Collier R, Taylor C, Fauquet C.** 2004. A geminivirus-induced gene silencing system for gene function validation in cassava. *Plant Molecular Biology*, 56:613-624.
- Grover A, Kapoor A, Lakshmi S, Agarwal S, Sahi Ch, Katiyar-Agarwal S, Agarwal M, Dubey H.** 2001. Understanding molecular alphabets of the plant abiotic stress responses. *Current Science*, 80(2):206-216.
- Henikoff S, Till B, Comai L.** 2004. TILLING. Traditional mutagenesis meets functional genomics. *Plant Physiology*, 135:1-7.
- Hu H, Dai M, Yao J, Xiao B, Li X, Zhang Q, Xiong L.** 2006. Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor and salt tolerant in rice. *Proceedings of the National Academy of the United States of America*, 103:12987-12992.
- IAEA.** 1998. *In vitro techniques for selection of radiation induced mutations adapted to adverse environmental conditions.* Proceedings of a final Research Co-ordination Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held. TECDOC-1227. 17-21 August. Shanghai, China.
- Isamah G.** 2004. ATPase, peroxidase and lipoxygenase activity during post-harvest deterioration of cassava (*Manihot esculentum* Crantz) root tubers. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54(4):319-323.
- Jauhar PP.** 2006. Modern biotechnology as an integral supplement to conventional plant breeding: The prospects and challenges. *Crop Science*, 46:1841-1859.
- Jobling S.** 2004. Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion of Plant Biology*, 7:210-218.
- Jorge V, Fregene M, Duque M, Bonierbale M, Tohme J, Verdier V.** 2000. Genetic mapping of resistance to bacterial blight disease in cassava (*Manihot esculentum* Crantz). *Theoretical Applied Genetics*, 101(5-6):865-872.
- Joseph R, Yeoh H, Loh S.** 2004. Induced mutations in cassava using somatic embryos and the identification of mutant plants with altered starch yield and composition. *Plant Cell Reproduction*, 23:91-98.
- Jorgensen K, Bak S, Kamp Busk P, Sorensen Ch, Olsen C, Puonti-Kaerlas J, Moller B.** 2005. Cassava plants with a depleted cyanogenic glucoside content in leaves and tubers. Distribution of cyanogenic glucosides, their site of synthesis and transport, and blockage of the biosynthesis by RNA interference technology. *Plant Physiology*, 139:363-374.
- Kawano K, Narintaraporn K, Narintaraporn P, Sarakarn S, Limsila A, Limsila J, Suparhan D, Sarawat V, Watananonta W.** 1998. Yield improvement in a Multistage Breeding Program for Cassava. *Crop Science*, 38(2):325-332.
- Ku M.** 2000. *Scientists achieve major breakthrough in rice; data to be shared with worldwide research community.* School of Biological Sciences Washington State University. U. S. A. <http://

- www.biotech-info.net/rice_breakthrough.html>. Fecha de consulta: 20 de junio de 2006.
- Lahai M, Ekanayake I, George J.** 2003. Leaf chlorophyll content and tuberous root yield of cassava in inland valley. *African Crop Science Journal*, 11(2):107-117.
- Lagoda P.** 2004. Cells suspension in cassava. *Plant Breeding Genetics Newsletter*, 3:13.
- Lenis J, Calle F, Jaramillo G, Perez J, Ceballos H, Cock J.** 2006. Leaf retention and cassava productivity. *Field Crop Research*, 95:126-134.
- Lin Y, Tanaka S.** 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiological Biotechnology*, 29(6):627-642.
- Magnaghi A.** 2005. Local self-sustainable development: Subjects of transformation. *Tailoring Biotechnologies*, 1(1):79-102.
- Matsuoka M, Furbank R, Fukayama H, Myyao M.** 2001. Molecular engineering of C4 photosynthesis. *Annual Review of Plant Molecular Biology*, 52:297-314.
- Mejía De Tafur S, el-Sharkawy M, Calle F.** 1997. Photosynthesis and yield performance of cassava in seasonally dry and semiarid environments. *Photosynthetica*, 33(2):249-257.
- Mejía De Tafur S, el-Sharkawy M, Cadavid L.** 1997. Response of cassava (*Manihot esculentum* Crantz) to water stress and fertilization. *Photosynthetica*, 34(2):233-239.
- Mejía de Tafur S.** 2002. Fisiología de la yuca. Pp. 34-45 Ceballos H, Ospina B (eds.). En: *La yuca en el tercer milenio*. CIAT. Palmira (Valle del cauca), Colombia.
- Nakashima K, Yamagushi-Shinozaki K.** 2005. Molecular studies on stress responsive gene expression in *Arabidopsis* and improvement of stress tolerance in crop plants by regulon biotechnology. *Jarq-Japan Agricultural Research Quarterly*, 39:221-229.
- Nomura M, Sentoku N, Nishimura A, Lin JH, Honda C, Taniguchi M, Ishida Y, Ohta S, Komari T, Tokutomi M, Murikami Y, Tajimare S, Ku M, Matsuoka M.** 2000. The evolution of C4 plants: acquisition of cis-regulatory sequences in the promoter of C4- type pyruvate orthophosphate dikinase gene. *The Plant Journal*, 22(3): 211-221.
- Otani M, Saito H, Abe T, Shimada T.** 2006. Induction of mutations in sweetpotato plants by heavy-ion beam irradiation. *ISHS Acta Horticulturae*, 703: II international symposium on sweetpotato and cassava: innovative technologies for commercialization. International Society for Horticultural Science (ISHS). Leuven, Bélgica.
- Pérez J, Ceballos H, Ortega E, Lenis J.** 2005. Análisis de la interacción genotipo por ambiente en yuca (*Manihot esculentum* Crantz). *Fitotecnica Colombiana*, 5(2):11-19.
- Pospíšilová J.** 2003. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. *Biologia Plantarum*, 46(4):491-506.
- Rai SP, Luthra R, Gupta MM, Kumar S.** 2001. Pleiotropic morphological and abiotic stress resistance phenotypes of the hyper-abscisic acid producing Abo-mutant in the periwinkle *Catharanthus roseus*. *Journal of Biosciences*, 26(1):57-70.
- Ramírez L.** 2004. Caracterización de RUBISCO en introducciones de café y su relación con la actividad fotosintética. Tesis de Doctorado. Unidad de tercer ciclo Programa de Análisis Experimental en Biología, Universidad Pablo de Olavide. Sevilla, España.
- Raemakers K, Schreuder M, Suurs L, Furrer-Verhorst H, Vincken J, Vetten N, Jacobsen E, Visser R.** 2005. Improved cassava starch by antisense inhibition of granule-bound starch synthase i. *Molecular Breeding*, 16(2):163-172.
- Rehman S, Harris P, Ashraf M.** 2005. Stress environments and their impact on crop production. Pp. 3-18. En: Ashraf M, Harris P (eds.). *Abiotic stresses plant resistance through breeding and molecular approaches*. Food Products Press. Binghamton (NY), U. S. A.
- Sage R.** 2004. The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytologist*, 161:341-370.
- Sahrawy M, Ávila C, Chueca A, Canovas F, López J.** 2004. Increased sucrose level and altered nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana* transgenic plants expressing antisense chloroplastic fructose-1, 6-bis phosphatase. *Journal of Experimental Botany*, 155(408):2495-2503.
- Sánchez T, Chávez A, Ceballos H, Rodríguez D, Nestel P, Ishitani M.** 2006. Reduction or delay of post-harvest physiological deterioration in cassava roots with higher carotenoid content. *Journal Science of Food and Agriculture*, 86:634-639.
- Santisopasri V, Kurotjanawong K, Chotineerarat S, Piyachomkwan K, Sriroth K, Oates C.** 2001. Impact of water stress on yield and quality of cassava starch. *Industrial Crops and Products*, (13):115-129.
- Sarathi Reddy V, Basappa S.** 1996. Direct fermentation of cassava starch to ethanol by mixed cultures of *Endomycopsis fibuligera* and *Zymomonas mobilis*: Synergism and limitations. *Biotechnology Letters*, 18(11):1315-1318.
- Sautter C, Poletti S, Zhang P, Gruissem W.** 2006. Biofortification of essential nutritional compounds and trace elements in rice and cassava. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56(2):153-159.
- Shuurman FJ.** 2005. Globalization and development research: some contentious issues. *Tailoring Biotechnologies*, 1:65-78.
- Siritunga D, Sayre R.** 2004. Engineering cyanogen synthesis and turnover in cassava (*Manihot esculentum* Crantz). *Plant Molecular Biology*, 56(4):661-669.

- Smith A.** 2005. How plants make and degrade starch granules. Pp. 7-13. *En: Tetlow J, Anderson P (eds.). Proceedings Starch Update 2005: The third conference on Starch Technology.* Bangkok, Thailand.
- Spencer M.** 2006. Identification and pyramiding of mutated genes: novel approaches for improving crop tolerance to salinity and drought. *Plant Breeding and Genetics Newsletter*, 17:9-17.
- Sriroth K, Piyachomkwan K, Santisopasri V, Oates C.** 2001. Environmental conditions during root development: Drought constraint on cassava starch quality. *Euphytica*, 120(1):95-102.
- Sundaresan S, Sudhakaran P.** 1995. Water stress-induced alterations in the proline metabolism of drought-susceptible and tolerant cassava (*Manihot esculentum* Crantz) cultivars. *Physiologia Plantarum*, 94(4):635-643.
- Taylor N, Chavarriaga P, Raemakers K, Siritunga D, Zhang P.** 2004. Development and application of transgenic technologies in cassava. *Plant Molecular Biology*, 56:671-688.
- Tofiño A, Fregene M, Ceballos H, Cabal D.** 2006. Regulación del almidón en plantas terrestres: perspectivas de modificación. *Acta Agronómica*, 55(1):1-13.
- Umezawa T, Fujita M, Fujita Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.** 2006. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. *Current opinion in Biotechnology*, 17:113-122.
- Wu J, Wu C, Lei C, Baraoidan M, Bordeos A, Madamba M, Ramos-Pamplona M, Mauleon R, Portugal A, Ulat V, Bruskiewich R, Wang G, Leach J, Khush G, Leung H.** 2005. Chemical- and irradiation-induced mutants of indica rice IR64 for forward and reverse genetics. *Plant Molecular Biology*, 59:85-97.
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.** 2006. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology*, 57:781-803.
- Zhang X, Holt J, Colvin J.** 2000. A general model of plant-virus disease infection incorporating vector aggregation. *Plant Pathology*, 49(4):435-444.
- Zhang P, Grisse W.** 2004. Extension of cassava leaf life by autoregulatory inhibition of senescence. Pág. 99. *Sixth International Scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network. March 8-14.* Cali, Colombia.