

Identificación de microsatélites en yuca asociados con la resistencia al ácaro *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae)

Microsatellite identification associated with resistance to the mite *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae)

ELIANA DEL PILAR MACEA CHOPERENA¹, CESAR OSPINA², MARTIN FREGENE³,
JAMES MONTOYA-LERMA⁴ y ANTHONY C. BELLOTTI⁵

Resumen: El desarrollo del mapa genético de yuca ha facilitado las investigaciones en la búsqueda de genes asociados con resistencias a plagas que disminuyen producción y calidad. Las herramientas moleculares como los marcadores facilitan la identificación de los genes que dominan la resistencia a plagas como el caso del ácaro verde (AVY) *Mononychellus tanajoa* en yuca (*Manihot esculenta*). Inicialmente se identificaron los individuos de poblaciones retrocruces (BC1) progenie de las cuatro familias denominadas CW. De estos BC1 se seleccionaron individuos resistentes y susceptibles teniendo en cuenta la escala de daño reportada por el programa de Entomología del Centro Internacional de Agricultura Tropical. Se evaluaron 500 cebadores microsatélites mediante análisis de grupos segregantes (BSA), cinco de ellos expresaron polimorfismo y mostraron diferencias significativas entre los parentales, los grupos contrastantes y tres cebadores SSRY 11 SSRY 346 y NS 1099. Al realizar los análisis estadísticos correspondientes se encontró que los cebadores NS 1099 y NS 346 presentaron asociación entre estos y los individuos de las familias CW 67 CW 66 y CW 67 respectivamente. Las familias CW67 Y CW66 presentaron la mejor asociación con los marcadores y éstos presentaron mayor asociación con la característica de resistencia al daño causado por *M. tanajoa* en la población segregante (cebador NS1099 familias CW66 0.56 CW67 0.61 y NS346 familia CW67 0.61). Con base en estos resultados se puede sugerir la utilización de microsatélites en análisis posteriores en otras poblaciones para lograr la identificación de algunas regiones cromosómicas que confieren la resistencia al ácaro verde de la yuca.

Palabras clave: Marcadores moleculares. Artrópodos plaga. Resistencia varietal.

Abstract: The development of the cassava genetic map has promoted research such as the finding of genes associated with the resistance of pests that diminish the production and quality of the crop. Molecular tools, such as markers can facilitate the identification of the genes that dominate resistance to pests this is the specific case of the presence of resistance to the green mite *Mononychellus tanajoa* (CGM) in cassava (*Manihot esculenta*). Initially, at International Center for Tropical Agriculture CIAT, individuals populations of backcrosses (BC1), lineage of four denominated families CW, were identified. These BC1 were identified and categorized according to 1-5 scale of damage reported by the Entomology Program at International Center for Tropical Agriculture. Resistant and susceptible individuals were identified. A total of 500 microsatellite markers were evaluated using the bulk segregant analysis (BSA). Five of them expressed polymorphism and showed significant differences between parental and contrast groups and three markers, namely, SSRY 11, SSRY 346 and, NS 1099. Statistical analysis revealed that markers NS 1099 and NS 346 displayed the highest association between resistance and the individuals of families CW 67, CW 66 and CW 67, respectively. On the basis of these results we can recommend the use of microsatellite for further analysis in other populations in order to achieve the of some chromosomal regions conferring resistance to green mite cassava.

Key words: Molecular markers. Arthropod pests. Varietal resistance.

Introducción

La yuca, *Manihot esculenta* Crantz, es una raíz amilácea, de la familia de las Euphorbiaceae, cuyo centro de origen es Brasil. Tiene gran importancia en la agricultura de subsistencia en cuanto que requiere pocas técnicas de producción o insumos y se propaga vegetativamente mediante estacas, y produce, bajo condiciones adversas de suelo y sequía, cosechas relativamente altas (FAO/FIDA 2000). Además, tanto sus raíces como hojas son consumidas por los humanos. Las primeras, por ser ricas en hidratos de carbono, representan la mayor fuente primaria de calorías para cerca de 1.000 millones de personas y constituyen un alimento básico para gran parte del mundo en desarrollo (Ospina y Ceballos 2002). Las segundas, son fuente de proteínas, minerales y vitaminas particularmente carotenos y vitamina C. En consecuencia, la yuca es uno de los cultivos más ampliamente estudiados por

fitomejoradores en búsqueda de variedades con características poblacionales de interés para su cultivo productivo. Las especies silvestres de *Manihot* son conocidas “fuentes” de genes de resistencia a prácticamente todas las plagas en especial ácaros, el complejo mosca blanca y piojos harinosos causantes de las mayores pérdidas en el cultivo tanto en América como en África (Bellotti *et al.* 1999; Burbano *et al.* 2007).

En Colombia, el ácaro verde de la yuca *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Acari: Tetranychidae) es percibido como uno de los problemas más serios del cultivo de esta planta (Moraes *et al.* 1982). Al reducir el contenido de carbohidratos y proteínas, causa pérdidas en el rendimiento de raíces (Bellotti *et al.* 1999; Burbano *et al.* 2007). Se ha reportado pérdidas de rendimiento del 21, 25 y 53% con ataques de duración de tres, cuatro y seis meses; 73% para cultivares susceptibles vs 15% para cultivares resistentes, en África la pérdida de rendimiento es del 13-80%. Las siembras extem-

¹ Bióloga, Bs. C., Departamento de Biología Universidad del Valle, Cali, Colombia, Apartado aéreo 25360. emacea@gmail.com. Autor para correspondencia.

² Ingeniero Agrónomo, Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia. ³ Ph. D. mfregene@olanforthcenter.org. ⁴ Ph. D. Departamento de Biología Universidad del Valle, Cali, Colombia, Apartado aéreo 25360. ⁵ Ph. D. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia.

poráneas, el uso de variedades no seleccionadas, el inadecuado manejo de la fertilización y de malezas, entre otros, son factores favorables para el incremento poblacional e incidencia de este ácaro (Bellotti *et al.* 1999).

En el manejo de esta plaga, los acaricidas son la primera opción, aunque están lejos de ser una alternativa económica, ambientalmente segura y compatible con el Manejo Integrado de Plagas (MIP). En contraste, la resistencia de planta hospedera (RPH), altamente se ajusta a otros métodos de control y puede constituirse en el pilar del MIP que permita prevenir y controlar las pérdidas causadas por AVY. Así mismo, se cuenta con aportes al conocimiento y entendimiento de la naturaleza de los genes que confieren resistencia mediante el mejoramiento genético tradicional complementado con el uso de novedosas técnicas moleculares. Los marcadores moleculares basados en ADN, AFLP (por su sigla en inglés, amplified fragment length polymorphism) y RAPD (random amplified polymorphic DNA) han sido usados para escanear variaciones amplias del genoma y demostrar la existencia de patrones de dominancia heredables (Okogbenin y Fregene 2001; Okogbenin *et al.* 2006). Más recientemente, mediante el uso de marcadores específicos de QTL (quantitative trait loci) y SSR (simple sequence repeat) se obtuvo el mapa genético de la yuca y se detectaron genotipos y sistemas multialélicos codominantes asociados a la tolerancia y resistencia de dos importantes enfermedades, como el mosaico africano de la yuca y la bacteriosis vascular (Okogbenin y Fregene 2001; Okogbenin *et al.* 2006). Al correlacionar o asociar marcadores con las respuestas fisiológicas aportadas por la planta ante la presencia de una plaga e incrementar, mediante simple selección mendeliana, su capacidad de resistencia a ésta, se ofrecen a los agricultores del mundo genotipos resistentes y de mayor rendimiento. Por ejemplo Burbano *et al.* (2007) al comparar niveles de resistencia entre genotipos silvestres y variedades comerciales, encontraron que el silvestre *Manihot flabellifolia* Pohl, 1827 presentaba niveles intermedios de resistencia al ácaro verde de la yuca *M. tanajoa* (Allem 1994; Roa *et al.* 1997). Los resultados de esa evaluación fueron el punto de partida del presente estudio, en el cual se planteó la aplicación de la técnica de marcadores moleculares SSR con el objeto de lograr la identificación y localización de algunas regiones cromosómicas de la planta que confieran la resistencia al AVY.

Materiales y Métodos

El trabajo comprendió las siguientes etapas: Evaluación fenotípica en campo del comportamiento y respuesta de las plantas de yuca al ataque del ácaro verde, selección de variedades resistentes y susceptibles al ataque del ácaro verde según escala establecida para el daño ocasionado por esta plaga, evaluación de 500 cebadores para determinar cuantos y cuales se encontraron asociados a la característica de resistencia a AVY y la valoración de la significación del coeficiente de correlación para determinar si hay o no asociación entre los marcadores moleculares seleccionados y la resistencia al ácaro verde.

Evaluación fenotípica de progenie (retrocruce BC1) de yuca al ácaro verde. Para este estudio se emplearon cuatro familias de yuca (CW 65, 66, 67, 68) progenies del retrocruce (BC1) provenientes del cruzamiento inicial de dos variedades contrastantes, la accesión MFla 437-007 (*M. esculenta* sup

spp. *flabellifolia*, silvestre reportado y evaluado como resistente al AVY) y MCol 2215 (variedad venezolana con gran susceptibilidad a la misma plaga). De acuerdo a las evaluaciones fenotípicas tomadas en los lotes del CIAT y realizadas por la unidad de Entomología en tres años consecutivos (2003, 2004 y 2005), estas cuatro familias presentaron alta resistencia al AVY.

Selección de la población segregante de yuca para AVY. Los genotipos contrastantes se seleccionaron teniendo en cuenta la escala de evaluación para daño causado por AVY propuesta por Lenis *et al.* (1993) (Tabla 1).

Selección de individuos resistentes/susceptibles a AVY para conformar grupos contrastantes. Una vez seleccionados los genotipos segregantes y teniendo en cuenta la evaluación fenotípica, realizadas en los lotes de CIAT y donde se determinó el nivel de infestación en hojas, se escogieron individuos que exhibieran, de forma independiente, resistencia y susceptibilidad a AVY, teniendo en cuenta la escala de daño descrita anteriormente se conformaron dos grupos contrastantes, uno con altos niveles de resistencia (daño con sintomatología entre 1,0 y 2,9) y el otro con altos niveles de susceptibilidad (con sintomatología entre 4,1 y 5,9).

Análisis de grupos segregantes (BSA). Luego de seleccionados los individuos segregantes y confirmada su respuesta a AVY, se conformaron dos grupos contrastantes de individuos según la severidad observada en la evaluación fenotípica, basada en la escala de daño ya establecida. Se integró un grupo o bulk de individuos resistentes (sintomatología 1,0 y 2,0) y otro de susceptibles (sintomatología 4,0 y 5,0). Se hizo extracción de ADN de los individuos seleccionados, siguiendo el protocolo de Dellaporta (1983), se visualizó la calidad y se cuantificó la concentración del ADN extraído y se diluyó hasta obtener una concentración final de 10 ng/μl. En tubos eppendorff se mezclaron estas diluciones de ADN, en uno el de los individuos resistentes y por separado las diluciones de ADN de los individuos susceptibles, con el fin de conformar los dos grupos contrastantes y así realizar el análisis de grupos segregantes (Michelmore *et al.* 1991). Finalmente, el ADN de los parentales junto con el de los grupos contrastantes fueron evaluados utilizando 500 marcadores microsatélites (Tabla 2) que fueron diseñados con base en ADN.

En el cóctel de PCR se utilizaron, 3μl de ADN (10 ng/μl), 0,3 μl de taq-polimerasa (5U), 0,3 μl de cada cebador (10

Tabla 1. Escala de síntomas de daño ocasionado por ácaro verde AVY en yuca.

Grado	Observaciones
1.0	Indica una planta sana.
2.0	Planta con cogollos y/o hojas adyacentes con puntuaciones tenues, escasas y ligeramente amarillas.
3.0	Planta con cogollo y/o hojas adyacentes con puntuaciones tenues, ligeramente amarillas pero generalizadas.
4.0	Planta con cogollo y/o hojas adyacentes con amarillamiento notorio, generalizado y con ligera reducción del área foliar.
5.0	Planta con cogollo completamente afectado, amarillamiento general y fuerte reducción del mismo.
6.0	Planta con cogollo sin hojas con amarillamiento en la parte media (máximo daño).

μM), 0,6 μl de dNTPs (200 μM) y 1,5 μl de tampón 10X, en un volumen de 15 μl con agua HPLC en cada reacción. Los productos de la amplificación de los parentales y los grupos resistentes y susceptibles fueron visualizados en geles de poli-acrilamida al 4% de úrea en proporción 29:1 (acrilamida: bisacrilamida) en una electroforesis de tipo vertical, corridos a 1.370 v 90 mA y 80 W, durante 45 minutos, aproximadamente.

La evaluación de los 500 marcadores, tanto en los parentales como en los grupos contrastantes, permitió seleccionar aquellos asociados a la característica de resistencia al AVY (polimórficos) es decir, cuyo patrón de bandas mostró diferencias en relación con los padres. Esta selección fue respaldada con el patrón observado en los grupos contrastantes.

Identificación de SSR polimórficos en grupos Resistentes y Susceptibles. Se evaluó cada uno de los individuos de los grupos contrastantes con aquellos marcadores microsatélites seleccionados como candidatos y así se pudo confirmar el polimorfismo entre los parentales y los individuos resistentes y susceptibles. Lo anterior sirvió para escoger marcadores que determinaran la asociación entre el microsatélite y la resistencia al AVY.

Asociación entre SSR y respuesta fenotípica de la familia segregante a AVY. De acuerdo con la reacción de los individuos a AVY en campo y teniendo en cuenta los valores promedio de la evaluación fenotípica dentro de cada parcela o grupo de repeticiones, se utilizaron dos grupos de rangos según la escala de severidad de la enfermedad agrupándolos en dos categorías para el análisis estadístico, teniendo como modelos análogos de clasificación las categorías de agresividad de AVY en yuca. En la evaluación genotípica, se asignó 1 o 0 para denotar, respectivamente, presencia o ausencia de la banda o marcador. Se generó una matriz binaria la cual fue analizada con los paquetes estadísticos SAS (V.6) y SPSS (v-11.6) en conjunto con los datos de la evaluación fenotípica de campo, buscando la asociación entre las bandas y la respuesta fenotípica a AVY, bajo la hipótesis de la inexistencia de asociación entre el marcador molecular y la resistencia a AVY. Se realizó una correlación, entre la severidad del daño ocasionado por el AVY y la presencia o ausencia del marcador candidato, la cual fue verificada mediante una prueba de chi-cuadrado, para valorar la significación del coeficiente de correlación y así determinar si había o no asociación entre los marcadores moleculares seleccionados y la resistencia al ácaro verde. Los datos fueron analizados mediante chi-cuadrado al 0.05% de significancia.

Resultados y Discusión

Distribución de frecuencias de AVY en yuca evaluadas por expresión fenotípica en campo. En este estudio, se muestra la distribución de la frecuencia de AVY en la población segregante (Retrocruce1) correspondiente a las progenies de las familias CW 65, 66, 67 y 68. Los individuos se agruparon como una sola población, de 120 individuos seleccionados 18 (15%) fueron resistentes, 49 (41%) susceptibles y 53 (44%) intermedios (Fig. 1). Estos últimos fueron descartados en esta evaluación. La menor proporción de fenotipos resistentes y susceptibles en la población segregante sugiere que existe una poca contribución génica al papel que puede ejercer el ambiente en la expresión de la característica de resistencia,

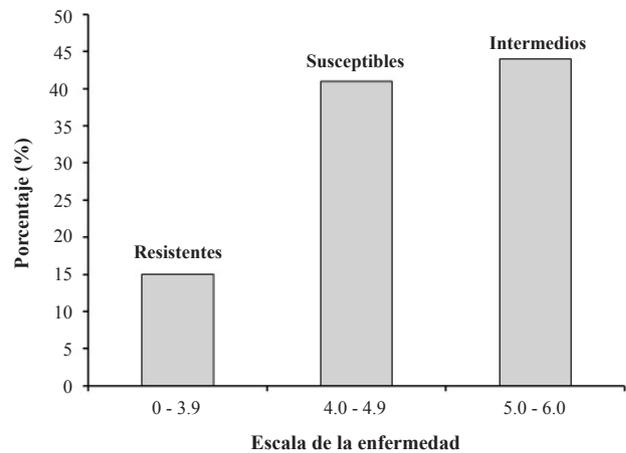


Figura 1. Distribución de frecuencia de AVY en individuos producto del retrocruce 1 (CW 65, 66, 67) de acuerdo al nivel de resistencia a *Mononychellus tanajoa* en yuca.

esto quiere decir que diversos factores ambientales estarían desempeñando un papel importante en la expresión de la resistencia al daño por AVY.

Análisis de grupo segregante utilizando SSR en la población BC1 seleccionada. El análisis de los grupos segregantes en la población evaluada (CW) con los 500 marcadores microsatélites SSRY (Tabla 2), cuyo objetivo principal fue encontrar bandas (marcadores) asociadas con la resistencia al ácaro verde de la yuca, permitió observar que el polimorfismo se expresa en tres formas distintas (Fig. 2). Este tipo de resultado concuerda con lo reportado por Hurtado *et al.* (2004) en la detección de resistencia al añublo bacterial de la yuca en Colombia donde, al igual que en nuestro trabajo, se observaron diferencias entre el parental resistente y susceptible, diferencia igualmente observable en los grupos contrastantes. Se observaron diferencias entre los grupos contrastantes y además entre el parental resistente con el parental susceptible (Fig. 2A). Esto indica que aunque existe un polimorfismo asociado es posible que corresponda a otro tipo de asociación. Por otro lado se observó la presencia de una banda segregada por el parental resistente al grupo de individuos resistentes (Fig. 2B) que permite suponer un polimorfismo de presencia de banda para el gen resistente lo que, a su turno, sugiere que la banda visualizada puede estar asociada con la resistencia al AVY y que los marcadores evaluados, generadores del polimorfismo, son potenciales candidatos marcadores SSR. Además, se observaron también

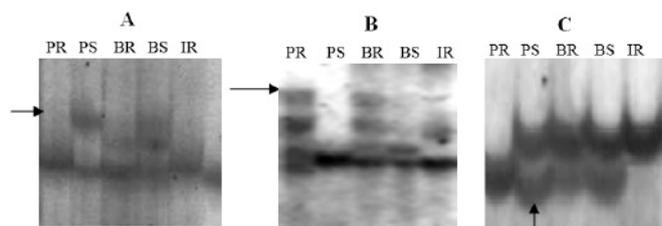


Figura 2. Polimorfismos detectados con los marcadores evaluados SSR en el análisis de grupos segregantes. **A.** ausencia de banda en el resistente. **B.** presencia de banda en el resistente. **C.** presencia de banda en los grupos y el parental susceptible. PR-PS = parental resistente y susceptible, BR-BS = Grupo resistente y susceptible.

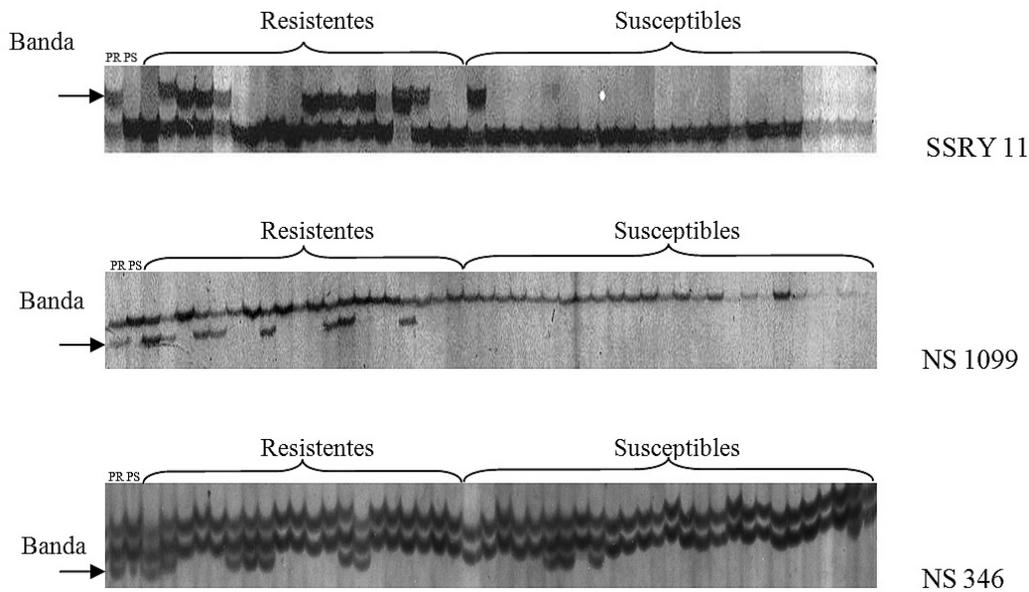


Figura 3. Geles de poliacrilamida que muestran la amplificación de los parentales e individuos que conforman los grupos contrastantes con los seleccionados como marcadores candidatos.

diferencias entre el parental resistente con el parental susceptible y los dos grupos contrastantes (Fig. 2C), lo que sugiere que la banda presente en el parental susceptible y los grupos contrastantes sea expresión de otra característica con poco o sin interés en la resistencia a AVY.

De los 500 marcadores SSR evaluados, 11 fueron seleccionados por presentar la banda en el parental y el grupo contrastante, resistentes y, por tanto, se escogieron como posibles marcadores moleculares asociados con la resistencia al ácaro verde de la yuca.

Evaluación de SSR polimórficos en individuos que conforman grupos contrastantes. De la evaluación de los 11 marcadores microsatélites SSRY en los individuos que conforman los grupos contrastantes, SSRY 11, SSRY 181, NS 346, NS 1099 y NS 1141, mostraron diferencias entre individuos resistentes y susceptibles, *i.e.* los grupos contrastantes, y fueron considerados como marcadores candidatos. Durante la visualización de estos cinco marcadores microsatélites polimórficos evaluados con los individuos considerados como resistentes y susceptibles al daño mecánico causado por *M. tanajoa*, se observó que algunos individuos (15%) segregaban sólo la banda proveniente del padre considerado como resistente a nivel fenotípico, es decir, homocigotos para esa característica. Para el caso de los marcadores multialélicos (NS 1141 y SSRY 181) es lógico esperar que, en la selección de una variable ambigua y continua como lo es la resistencia a determinada plaga, se presenten diferentes expresiones a dicha característica, lo anterior debido a que, la yuca tiene un genoma diploide ($2n = 36$) y el contenido de ácido nucleico de yuca diploides es de 1,67 picogramos por núcleo que es 772 pares de mega bases en el genoma haploide (Awoloye *et al.* 1994). Algunos autores la han descrito como un alotraploide con número cromosómico básico $x = 9$. Jos y Nair (1979), sin embargo, en estudios realizados sobre el comportamiento meiótico de varios genotipos de yuca observaron la formación regular de 18 bivalentes de los cromosomas típicos de su diploides ($2n = 2x = 36$ cromosomas). En 1997,

se construyó un mapa molecular de ligamiento genético del genoma de la yuca (Fregene *et al.* 1997), sin embargo, no se sabe mucho acerca de los genes individuales que componen el genoma. Al abrir la población, se observó que tres de los cinco microsatélites presentaban diferencias entre parentales e individuos resistentes y susceptibles que conforman los grupos contrastantes (Fig. 3) por lo cual fueron considerados como marcadores candidatos.

Asociación entre SSRY y NS y la resistencia al ácaro verde de la yuca. Los resultados de las correlaciones nos muestran que de los tres marcadores microsatélites seleccionados sólo NS 1099 y NS 346 presentan relación entre el daño mecánico causado por el AVY y la característica genética de los individuos que conforman las familias CW 66 y CW 67. Se observa, además, que los valores de la asociación entre los datos fenotípicos y genotípicos fueron altos (Tabla 3). Estos dos marcadores moleculares mostraron mayor grado discriminatorio, lo cual indica que fue posible determinar que el 61% de los individuos que en campo se presentaron con bajo nivel de incidencia al AVY, molecularmente segregaron una banda especial, asociada a la resistencia.

Al comparar las frecuencias fenotípicas obtenidas, a través de la evaluación del daño por *Mononychellus tanajoa* para los individuos de las cuatro familias, con las frecuencias genotípicas de la evaluación molecular de los grupos contrastantes (Resistentes y Susceptibles) de la población segregante, se obtuvo que los microsatélites NS 1099 y NS 346 en la familia CW 66 y CW 67, presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4). Esto indica que los dos criterios de clasificación, en este caso las evaluaciones fenotípica y genotípica, no son eventos independientes y, por consiguiente, que existe una relación entre sus frecuencias para las poblaciones segregantes. En otras palabras, se confirma que tal marcador está asociado a la característica de resistencia al daño causado por *M. tanajoa*.

Finalmente, aunque no fue posible determinar la ubicación de los tres marcadores candidatos en el mapa de yuca,

Tabla 2. 500 marcadores SSR evaluados en los parentales, los grupos contrastantes e individuos resistentes y susceptibles.

Primer

SSRY1	SSRY186	NS10	NS189	NS376	NS945	NS1097
SSRY4-SSRY7	SSRY 191	NS22	NS190	NS384	NS946	NS1099
SSRY9-SSRY12	SSRY 193	NS30	NS192- NS194	NS395	NS955	NS1100
SSRY15- SSRY21	SSRY 195	NS33	NS197	NS576	NS963	NS1107
SSRY23- SSRY25	SSRY 200	NS36	NS198	NS584	NS977	NS1109- NS1111
SSRY28	SSRY 205	NS37	NS207	NS587	NS978	NS1113
SSRY29	SSRY 225	NS40	NS210	NS602	NS1006- NS1008	NS1115- NS1117
SSRY31- SSRY34	SSRY 226	NS53	NS216	NS619	NS1014	NS1119
SSRY36	SSRY 228	NS57	NS217	NS622	NS1016	NS1121
SSRY38- SSRY42	SSRY 229	NS59	NS235	NS656	NS1019	NS1123
SSRY44- SSRY48	SSRY 237	NS69	NS248	NS658	NS1020	NS1128
SSRY50- SSRY52	SSRY 239	NS72- NS74	NS255	NS664	NS1021	NS1130
SSRY55	SSRY 240	NS76- NS78	NS260	NS667	NS1023	NS1141
SSRY57- SSRY69	SSRY 248	NS80	NS265	NS689	NS1025	NS1142
SSRY71- SSRY80	SSRY 250- SSRY 252	NS82	NS267	NS693	NS1028- NS1030	(ESTs)SSRY1-(ESTs)SSRY117
SSRY82- SSRY84	SSRY 256	NS92	NS271	NS701	NS1035	(ESTs)SSRY154
SSRY87- SSRY90	SSRY 261	NS97	NS272	NS713	NS1037	(ESTs)SSRY179
SSRY93- SSRY96	SSRY 269	NS109	NS287	NS717	NS1038	(ESTs)SSRY190
SSRY99- SSRY108	SSRY 272	NS119	NS300	NS720	NS1040	(ESTs)SSRY194
SSRY110	SSRY 276	NS124	NS301	NS725	NS1043	(ESTs)SSRY209
SSRY112- SSRY127	SSRY 278	NS128	NS306	NS774	NS1045	(ESTs)SSRY227
SSRY129- SSRY135	SSRY 284	NS136	NS308	NS781	NS1046	(ESTs)SSRY230
SSRY137- SSRY142	SSRY 292	NS142	NS313	NS847	NS1047	(ESTs)SSRY232
SSRY144	SSRY 296	NS144	NS315	NS882	NS1052	(ESTs)SSRY235-(ESTs)SSRY239
SSRY146- SSRY157	SSRY 302- SSRY 304	NS149	NS319	NS890	NS1054	(ESTs)SSRY244
SSRY159- SSRY161	SSRY 309	NS158- NS160	NS323	NS898	NS1056	(ESTs)SSRY245
SSRY164	SSRY 311- SSRY 313	NS162	NS327	NS899	NS1057	(ESTs)SSRY247
SSRY165	SSRY 319	NS166	NS340- NS342	NS905	NS1059- NS1061	(ESTs)SSRY249
SSRY169	SSRY 322	NS169	NS346	NS909	NS1070	(ESTs)SSRY250
SSRY171- SSRY173	SSRY 324	NS170	NS347	NS911	NS1072	(ESTs)SSRY253
SSRY175	SSRY 326	NS174	NS349	NS912	NS1081	(ESTs)SSRY258-(ESTs)SSRY260
SSRY177	SSRY 330	NS176	NS350	NS917	NS1082	(ESTs)SSRY262
SSRY179- SSRY182	SSRY 339	NS178	NS356	NS928	NS1087	(ESTs)SSRY264-(ESTs)SSRY292
SSRY185	NS6	NS185	NS371	NS933	NS1093	(ESTs)SSRY295-(ESTs)SSRY301

es plausible sugerir una clara asociación entre éstos y la resistencia al ácaro verde de la yuca. La segregación presentada por CW 66 y 67 y la naturaleza contrastante de los parentales, permite proponer su utilización en estudios posteriores de evaluación con miras a generar un nuevo mapa de yuca. Esto permitiría localizar nuevos marcadores que expliquen

la resistencia de *M. esculenta* a diversas plagas. En el futuro, se sugiere utilizar los microsatélites NS 1099 y NS 346 en evaluaciones con individuos resistentes, genéticamente relacionados con CW 66 y CW 67, ampliando la muestra poblacional con el fin de obtener nuevos marcadores tipo microsatélites.

Tabla 3. Resultados de los análisis estadísticos, correlación y regresión lineal realizados con los tres marcadores candidatos a los individuos CW.

Marcador	Familia	Coficiente Correlación (r)	Regresión R ²
NS 1099	CW 66	- 0.56*	0.32
	CW 67	- 0.61*	0.37
NS 346	CW 67	- 0.61*	0.37

Tabla 4. Resultados de la prueba de independencia de las familias CW 66 y CW 67 con los dos marcadores seleccionados como candidatos por presentar polimorfismo.

Marcador	Familia	Valor χ^2	G.L.	α	Pind Sig. Asint.
NS 1099	CW 66	6.59	1	0.5	0.01*
	CW 67	3.83	1	0.5	0.05*
NS 346	CW 67	3.83	1	0.5	0.05*

* Correlación significativa P < 0.01.

Agradecimientos

Al personal del laboratorio de Genética de Yuca y de Entomología de Yuca por toda la colaboración para el desarrollo de este trabajo. Al Centro de Investigaciones de Agricultura Tropical CIAT.

Literatura citada

- ALLEM, A. C. 1994. The origin of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 41: 133-150.
- AWOLEYE, F., VAN DUREN, M., DOLEZEL, J., NOVAK, F. J. 1994. Nuclear DNA content and in vitro induced somatic polyploidization (*Manihot esculenta* Crantz) Cassava breeding. *Euphytica* 76: 195-202.
- BELLOTTI, A. C.; SMITH, L.; LAPOINTE, S. T. 1999. Recent advances in cassava pest management. *Annual Review of Entomology* 44: 343-370.
- BURBANO, M.; CARABALÍ, A.; MONTOYA-L., J.; BELLOTTI, A. C. 2007. Resistencia de especies de *Manihot* a *Mononychellus tanajoa* (Acariformes), *Aleurotrachelus socialis* y *Phenacoccus herreni* (Hemiptera). *Revista Colombiana de Entomología* 33 (2): 110-115.
- DELLAPORTA, S. L.; WOOD, J.; HICKS, J. B. 1983. A plant DNA mini preparation: version II. *Plant Molecular Biology Report* 1: 19-21.
- FAO/FIDA (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola/Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2000. La economía mundial de la yuca: hechos, tendencias y perspectivas. Italia. 78 p.
- FREGENE, M.; ÁNGEL, F.; GÓMEZ, R.; RODRÍGUEZ, F.; CHAVARRIAGA, P.; ROCA, W.; TOHME, J.; BONIERBALE, M. 1997. A molecular genetic map of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Theoretical and Applied Genetics* 95: 431-441.
- HURTADO, P. X.; ÁLVAREZ, E.; FREGENE, M.; LLANO, G. A. 2004. Detección de marcadores microsatélites asociados con la resistencia a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* en una familia de yuca (bc1). *Fitopatología Colombiana* 28 (2): 81-86.
- JOS, J. S., NAIR, S. G. 1979. Pachytene pairing in relation to pollen fertility in five cultivars of Cassava. *Cytologia* 44: 813-820.
- LENIS, J. I.; BRAUN, R.; MESA, N.; DUQUE, M. 1993. Uso de escalas para la estimación de poblaciones de ácaros Tetranychidae en cultivos de yuca. pp 139-172. En: Braun, R. (Ed.). Bases fundamentales para investigación sobre los ácaros plagas y sus enemigos naturales en el Ecuador. Documento de trabajo No 126. CIAT, Cali-Colombia. 51 p.
- MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R. V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 88 (21): 9828-9832.
- MORAES, G.; DENMARK, H.; GUERRERO, J. M. 1982. Phytoseiid mites of Colombia (Acarina: Phytoseiidae). En: *International Journal Acarology* 8 (1): 15-22.
- OKOGBENIN, E.; FREGENE, M. 2001. Genetic mapping of QTLs affecting productivity and plant architecture in a full-sib cross from non-inbred parents in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) *Theoretical and Applied Genetics* 107: 1452-1462.
- OKOGBENIN, E.; MARIN, J.; FREGENE, M. 2006. An SSR-based molecular genetic map of cassava. *Euphytica* 147: 433-440.
- OSPINA, B.; CEBALLOS, H. 2002. La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento y comercialización. CLAYUCA. 586 p. (Publicación CIAT; No. 327) ISBN 958-694-043-8. Cali. Colombia.
- ROA, A.; MAYA, C.; DUQUE, M. C.; TOHME, J.; ALLEM, A. C.; BONIERBALE, M. W. 1997. AFLP analysis of relationships among cassava and other *Manihot* species. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 741-750.

Recibido: 16-jun-2011 • Aceptado: 9-may-2012