

Diversidad genética en cultivares de *Manihot esculenta* Crantz en Nicaragua determinada mediante microsatélites (SSR)

Erwin Aragon^{1*}, Víctor Aguilar², Jecsa Arguello³. *Autor para correspondencia.

¹Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. Colonia Centroamérica, Contiguo al Distrito 5, Policía Nacional-Apartado Postal 1247, Managua, Nicaragua. e-mail: earagon17@hotmail.com

²Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria. Managua Nicaragua, km 12 ½ carretera Norte. Apdo 453.

³Egresada de la carrera de Ingeniería Agronómica generalista, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria.

RESUMEN

Un total de 37 cultivares de yuca, colectados en cuatro departamentos de Nicaragua, fueron investigados mediante microsatélites, para revelar la diversidad genética y evaluar las relaciones filogenéticas con cultivares mejorados, con perspectiva a garantizar un manejo sostenible de los recursos genéticos que dispone el país. Los análisis de diversidad y diferenciación genética fueron desarrollados a partir de los datos obtenidos de nueve marcadores microsatelitales (SSR). Se detectó un total de 47 alelos y el número de alelos por locus varió de tres a nueve. Se encontró un alto índice de diversidad genética con 0.61. El valor promedio del Coeficiente de Información Polimórfica fue de 0.60. Esto demostró que los marcadores más informativos y polimórficos fueron GA-131, SSRY 100 y GA-12. El análisis molecular de varianza mostró una mayor diferencia dentro del grupo, no así entre grupos. La mayor distancia genética, se encontró entre el grupo de Matagalpa con el de Río San Juan, con menor distancia la Región Autónoma del Atlántico Sur con las Internacionales, mientras que el grupo de Río San Juan y León, presentaron la mayor identidad genética. El Análisis de Componentes Principales permitió identificar duplicidad dentro de las accesiones colectadas.

Palabras clave: accesiones, alelos, locus, yuca.

Genetic diversity of *Manihot esculenta* Crantz cultivars in Nicaragua assessed with microsatellite (SSR)

ABSTRACT

A total of 37 cassava cultivars from Nicaragua were evaluated using microsatellite marker to reveal the genetic diversity and phylogenetic relationship with improved cultivars, aiming to ensure a sustainable management of genetic resources of the country. The genetic diversity analyses were obtained from data of nine microsatellite markers. A total of 47 alleles were detected. The number of alleles varied from a range of three to nine. The index of genetic diversity was high with 0.61. The average value of the mean PIC was 0.60, showing that the most informative and polymorphic markers were GA-131, SSRY-100 and GA 12. The variance molecular analysis showed major difference within groups and low difference among groups. The largest genetic distance, determined among groups was found between population of Matagalpa and Río San Juan cassava accessions. South Atlantic Autonomous Region and introduced accessions presented the shortest genetic distance. while the population of Río San Juan and Leon showed the highest genetic identity. Analysis of the main components showed difference and duplicity among individual into cassava accessions collected.

Key words: accession, alleles, cassava, locus.

INTRODUCCIÓN

Manihot esculenta Crantz (2n = 36), conocida como yuca, mandioca o cassava, es una planta perenne, monoica perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, originaria del Noroeste de Brasil. La yuca

ocupa el cuarto lugar en el mundo como producto básico, después del arroz (*Oryza sativa* L.), el trigo (*Triticum sativum* Lam. = *Triticum aestivum* (L.)Thell) y el maíz (*Zea mays* L.). Es fuente de calorías y componente básico en la dieta de más de 1 000 millones de personas de escasos recursos

económicos (Morrillo, 2009). En Nicaragua se estima un área de 31 389.75 hectáreas cultivadas (INIDE y MAGFOR, 2011) y aunque las variedades de yuca han sido cultivadas por mucho tiempo, no se conoce con exactitud su estructura genética en una zona y ni las posibles relaciones genéticas entre ellas en las zonas productoras. Por ello, se desconoce la diversidad genética que existe en el país.

Una herramienta biotecnológica que se utiliza para identificar diversidad genética y duplicidad de accesiones dentro de los bancos de germoplasma, son los marcadores moleculares basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas del inglés: *Polimerase Chain Reaction*) (Wilches, 2004).

El Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), a partir del año 2010, conduce estudios de mejora y conservación genética en cultivos para garantizar su calidad nutricional, entre las cuales se encuentra la yuca. El presente estudio, se realizó con el objetivo de determinar la diversidad genética de cultivares de yuca de las principales zonas del país, y establecer relaciones filogenéticas con cultivares mejorados. Esto contribuirá a garantizar un manejo sostenible de los recursos genéticos que dispone Nicaragua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron accesiones en cuatro departamentos de Nicaragua, durante los años 2010 y 2011. Estas fueron agrupadas según el lugar de colecta (León, Matagalpa, Región Autónoma del Atlántico Sur y Río San Juan). Además, para el estudio se incluyeron 14 accesiones introducidas del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y 4 accesiones introducidas de Brasil para un total de 52 accesiones, con el fin de comparar la estructura genética de las accesiones nacionales (Tabla 1).

Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN)

De cada accesión, se seleccionaron dos hojas jóvenes. Se desinfectaron con alcohol al 70% (v/v) y se secaron a temperatura ambiente durante tres días. Luego se procedió a triturar las hojas en nitrógeno líquido. Para la extracción de ADN, se usó el protocolo de extracción con Bromuro de Cetil-Trimetil Amonio (CTAB) desarrollado por Doyle y Doyle (1990). Se tomó aproximadamente 1 cm² de hoja de cada accesión. El ADN se resuspendió en 100 µl de solución tampón tipo EDTA-TRIS (TE) y se mantuvo a -20°C hasta su uso. Su calidad de extracción y la estimación de su concentración se determinó por electroforesis al 0.8%.

Tabla 1. Descripción de las accesiones de yuca (*Manihot esculenta*) colectadas en diferentes regiones productoras de Nicaragua.

Nombre de la Accesión	Nombre de colecta	Comunidad	Departamento
BGNY001	Algodón	Nueva Guinea	RAAS
BGNY002	Arbolito	Nueva Guinea	RAAS
BGNY003	Azucena 1	San Carlos	Río San Juan
BGNY004	Azucena 2	San Carlos	Río San Juan
BGNY005	BL Tex 0010Y	Big lagoon	RAAS
BGNY006	BLG-007Y	Big lagoon	RAAS
BGNY007	BLG-008Y	Big lagoon	RAAS
BGNY008	BL-Tex 0011Y	Big lagoon	RAAS
BGNY009	BL-Tex 009Y	Big lagoon	RAAS
BGNY010	Bluefields	Bluefields	RAAS
BGNY011	Castillo	San Carlos	Río San Juan
BGNY012	Ceiba	Cinco cruces	León
BGNY013	Chacaraseca	Chacaraseca	León

Tabla 1. Descripción de las accesiones de yuca (*Manihot esculenta*) colectadas en diferentes regiones productoras de Nicaragua. *Continuación*

Nombre de la Accesión	Nombre de colecta	Comunidad	Departamento
BGNY014	Chalmeca 1	San Carlos	Río San Juan
BGNY015	Chalmeca 2	San Carlos	Río San Juan
BGNY016	CM 2772	Colombia	CIAT
BGNY017	CM6119-7	Colombia	CIAT
BGNY018	CM-523-7	Colombia	CIAT
BGNY019	CM-6740-7	Colombia	CIAT
BGNY020	CM-6921-3	Colombia	CIAT
BGNY021	CM-773	Colombia	CIAT
BGNY022	CM-7073-7 ^a	Colombia	CIAT
BGNY023	CR-31	Colombia	CIAT
BGNY024	Cuapa	Cuapa	RAAS
BGNY025	Isabel	Cinco Cruces	León
BGNY026	Jerusalén	Río San Juan	Río San Juan
BGNY027	Melchorita	San Carlos	Río San Juan
BGNY028	Pata de paloma	Nueva Guinea	RAAS
BGNY029	Per-183	Colombia	CIAT
BGNY030	Per-183b	Colombia	CIAT
BGNY031	Poco sol	San Carlos	Río San Juan
BGNY032	Quelite	El Rama	RAAS
BGNY033	Quintalera	Nueva Guinea	RAAS
BGNY034	RPL-002Y	Laguna de Perlas	RAAS
BGNY035	RPL-003Y	Rock Point	RAAS
BGNY036	RPL-04Y	Laguna de Perlas	RAAS
BGNY037	RPL-005Y	Laguna de Perlas	RAAS
BGNY038	RPL-006Y	Laguna de Perlas	RAAS
BGNY039	SM-805-15	Cinco cruces	León
BGNY040	Tulito	San Carlos	Río San Juan
BGNY041	BL Tex-0012Y	Rock Point	RAAS
BGNY042	M-Col 219	Colombia	CIAT
BGNY043	Yema de huevo	Brasil	Brasil
BGNY044	Dorada	Brasil	Brasil
BGNY045	MN-Gua 86	Colombia	CIAT
BGNY046	Jari	Brasil	Brasil
BGNY047	CM-6921	Colombia	CIAT
BGNY048	MCol 2694	Colombia	CIAT
BGNY049	Ceiba	Rancho Grande	Matagalpa
BGNY050	Blanca	Rancho Grande	Matagalpa
BGNY051	Morada	Rancho Grande	Matagalpa

Leyenda: RAAS – Región Autónoma del Atlántico Sur, RSI – Río San Juan, CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Tabla 2. Descripción de las secuencias de los microsatélites utilizados para determinar la diversidad genética de cultivares de yuca en regiones productoras de Nicaragua.

Locus	Secuencia (5' a 3')	Secuencia 3' a 5'	*Ta °C
GA-5	TAATGTCATCGTCGGCTTCG	GCTGATAGCACAGAACACAG	50
GA-12	GATTCCTCTAGCAGTTAAGC	CGATGATGCTCTTCGGAGGG	50
GA-21	GGCTTCATCATGGAAAAACC	CAATGCTTTACGGAAGAGCC	48
GA-126	AGTGGAATAAGCCATGTGATG	CCCATAATTGATGCCAGGTT	53
GA-131	TTCCAGAAAGACTTCCGTTCA	CTCAACTACTGCACTGCACTC	53
GA-134	ACAATGTCCCAATTGGAGGA	ACCATGGATAGAGCTCACCG	50
GA-140	TTCAAGGAAGCCTTCAGCTC	GAGCCACATCTACTCGACACC	48
SSRY-242	TGGGTTCGAAAACAGCAAAC	TAATGCCTGGAGGGT AATGG	48
SSRY-100	ATCCTTGCCTGACATTTTGC	TTGCGCAGAGTCCAATTGTTG	48

*Ta. Temperatura de alineamiento en grados °C.

Amplificación de ADN

Los microsatélites usados (Tabla 2), fueron seleccionados por su alto nivel de polimorfismo, referidos en investigaciones realizadas en Nigeria (Dixon, 2002) y Brasil (Siqueira *et al.*, 2009).

El ADN se amplificó por PCR y el coctel estuvo compuesto por 12.5 µl de PCR Master mix (con la enzima Taq polimerasa 50 U/µl, 400 µl de cada una de los siguientes compuestos: dATP, dGTP, dCTP, dTTP y 3mM MgCl₂), 2 µl de cebador derecho, 2 µl de cebador izquierdo, 2 µl de ADN de cada muestra, 6 µl de agua calidad PCR.

Para la amplificación de las muestras se utilizó el siguiente programa: desnaturalización 4 min a 95°C, seguido por 29 ciclos de 1 min a 95°C, una segunda desnaturalización, 2 min a la temperatura de alineamiento definidos para cada iniciador, 2 min a 72°C en la extensión, y una etapa de extensión final de 1 min a 72°C. La reacción de amplificación se desarrolló en un volumen total de 25 µl por muestra.

Todos los productos PCR obtenidos se visualizaron en geles de agarosa tipo Metaphor a una concentración de 4%. A las cámaras se les adicionaron 600 ml de solución tampón Tris-Boro-EDTA a una concentración de 1X, mezclado con 25 µl de Bromuro de Etidio. El tamaño de los fragmentos fue calculado mediante la aproximación exponencial a partir de los datos generados por los microsatélites.

Diversidad genética

La estimación de la diversidad genética se hizo para los microsatélites y para los grupos de accesiones en estudio. Para ello, se utilizó el software GenAlex versión 6.2 (Peakall y Smouse, 2006). Se emplearon los siguientes estadísticos: número de alelos (Na), heterocigosidad observada (H_{obs}), heterocigosidad esperada (H_{esp}), contenido de información polimórfica (CIP), índice de Shannon (I) y frecuencia alélicas.

Diferenciación genética

La identidad genética (D_i) y la distancia genética (D) se calcularon mediante el software POPGENE versión 3.2 (Yeh y Boyle, 1997).

Para cuantificar la diferenciación genética, se utilizó el análisis molecular de varianza que es un marco de referencia para la estimación de estructura genética a partir de la información contenida en la frecuencia alélica, mediante el software GenAlex ver. 6.1 (Weir y Cockerham, 1984; Excoffier *et al.*, 2005; Peakall y Smouse, 2006).

Para apoyar la determinación de los grupos de diversidad y duplicidad, se efectuó un análisis de componentes principales basado en la correlación simple entre los estimados de distancias genéticas, para ello se utilizó el software GenAlex versión 6.2 (Peakall y Smouse, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética

Un total de 47 alelos fueron encontrados usando nueve microsatélites, los que mostraron alto nivel de polimorfismo y ello coincidió con lo referido por Casalla (2003) y Chavarriaga-Aguirre *et al.* (1998) en otros estudios. El número de alelos amplificados por *locus* presentó valores entre tres y nueve (Tabla 3). El GA-140 y el GA-134 identificaron el menor número de alelos con tres, seguido del *locus* GA-5, GA-21 y GA-126 con cuatro alelos. Los *locus* que identificaron mayor número de alelos fueron el GA-131 con nueve, el SSRY 100 con ocho y el GA-12 con siete.

Para los grupos de accesiones estudiados, los microsatélites presentaron números de alelos comprendidos entre 1.78 y 4.56 para el número de individuos analizados (Tabla 4). El grupo de las accesiones de la Región Autónoma del Atlántico Sur (RAAS) alcanzó el mayor número de alelos con un valor de 4.56 mientras que el grupo de Matagalpa mostró el más bajo (1.78). El menor o mayor número de alelos encontrados pudiera estar influenciado por la cantidad de muestras analizadas en los respectivos grupos (Zaldívar y Rocha, 2006).

Las diferentes accesiones analizadas por *locus*, presentaron baja heterocigosidad observada (H_{obs}), con promedio de 0.15, (0.00 a 0.40) (Tabla 3), valores ya encontrados en

otros estudios utilizando estos marcadores (Chavarriaga-Aguirre *et al.*, 1998). Esto confirma que la yuca por naturaleza es heterocigoto y que la forma de reproducción influye en los niveles de heterocigosidad.

Por otra parte, la heterocigosidad esperada (H_{esp}) tuvo un valor promedio de 0.61 en el orden de los obtenidos por Chavarriaga-Aguirre *et al.* (1998), quienes refirieron promedios de H_{obs} de 0.265 y H_{esp} de 0.684.

El mayor valor H_{esp} (0.82) fue obtenido con el microsatélite GA-131 y el menor con GA-134 (0.31). Estas variaciones se deben a que cada marcador codifica una región específica del ADN de cada genotipo. La heterocigosidad observada con valor medio de 0.15 mostró variación de 0.11 a 0.19, mientras que la heterocigosidad esperada varió de 0.23 a 0.63, con valor medio de 0.48 (Tabla 4). La heterocigosidad se mantiene debido a que la heterosis es un fenómeno común en la yuca.

El mayor índice de heterocigosidad observada lo expresó el grupo de Matagalpa con 0.19 y el de la RAAS con 0.18, esto se atribuye a que la posible existencia de heterosis en los cultivares establecidos en las zonas, tienen ciertas implicaciones de selección por los productores, utilizando cultivares resultado de un mejoramiento genético, fundamentalmente en este cultivo, donde el principal atractivo es la raíz. Esto pudiera explicar que el valor de heterocigosidad de la RAAS sea casi igual a las accesiones del grupo de Matagalpa.

Tabla 3. Parámetros de diversidad genética para marcadores microsatélites empleados en el análisis de diversidad genética de accesiones de yuca en Nicaragua.

Locus	Rango (pb)	Na	H_{obs}	H_{esp}	CIP	I
GA-5	132-162	4	0.00	0.68	0.68	0.83
GA-12	152-224	7	0.34	0.75	0.75	1.21
GA-21	112-158	4	0.00	0.47	0.46	0.56
GA-126	148-270	4	0.30	0.66	0.65	1.01
GA-131	90-162	9	0.40	0.82	0.81	1.41
GA-134	308-400	3	0.00	0.31	0.30	0.33
GA-140	172-198	3	0.00	0.47	0.46	0.43
SSRY-242	248-372	5	0.00	0.52	0.51	0.72
SSRY-100	178-290	8	0.30	0.80	0.79	1.36
Media		5	0.15	0.61	0.60	0.87
Sd		2	0.18	0.18	0.18	0.18

Na: Número de alelos, H_{obs} : heterocigosidad de media observada; H_{esp} : heterocigosidad media esperada., CIP: Contenido de información polimórfica; I: Índice de Shannon.

Tabla 4. Parámetros de diversidad genética determinados mediante marcadores tipo SSR en grupos de accesiones por regiones productoras de yuca en Nicaragua.

Grupos	N	Na	H _{obs}	H _{esp}	I
Internacionales	17	4.44	0.13	0.63	1.19
León	4	2.22	0.11	0.40	0.64
Matagalpa	3	1.78	0.19	0.23	0.38
RAAS	19	4.56	0.18	0.56	1.11
Rio San Juan	9	3.56	0.13	0.58	1.04
Media			0.15	0.48	

n: Número de individuos analizados; *Na*: Número de alelos, *H_{obs}*: heterocigosidad media observada; *H_{esp}*: heterocigosidad media esperada., *I*: Índice de Shannon.

La finalidad de la producción de yuca en el departamento de la RAAS es para el comercio. Por ello, al momento de establecer las parcelas no hay selección del material vegetal con ancestro altamente productivo. Sin embargo, la producción de Matagalpa generalmente es utilizada para el autoconsumo, por lo que se considera que el productor antes de establecer la parcela selecciona un limitado número de plantas que presentaron mayor tamaño y mejor calidad de la raíz, así como mayor resistencia a plagas y enfermedades (Zaldívar y Rocha, 2006).

El índice de diversidad de Shannon para los marcadores mostró media de 0.87. El menor valor se correspondió con GA-134 (0.33) y el mayor GA-131 (1.41) (Tabla 3). Esto indicó la alta riqueza genética de los individuos analizados. Los marcadores GA-131 y SSRY-100 presentaron los valores más altos de efectividad y mayor diversidad de individuos en el *locus*. Por otra parte, el índice de diversidad de Shannon para los grupos de accesiones en estudio evidenció que la riqueza genética de los individuos del grupo de Matagalpa fue menor (0.38) en comparación con los grupos de la RAAS 1.11 e Internacionales 1.19, que fueron las de mayor tamaño (Tabla 4).

El Contenido de Información Polimórfica (CIP) estimado fue mayor de 0.5, lo cual indicó que los microsatélites fueron muy discriminativos con la información generada en los *locus* estudiados. El marcador GA-134 presentó el valor más bajo (0.30). El resto de los marcadores presentaron valores entre 0.46 y 0.81. Se destacó con el mayor valor de efectividad de información el marcador GA-131 (0.81). Los datos corroboraron que los microsatélites utilizados en el estudio son

altamente polimórficos lo cual coincide con el criterio de Siqueira *et al.* (2009), quienes seleccionaron nueve marcadores altamente polimórficos, de los cuales siete fueron incluidos en el presente estudio.

Frecuencia alélica por grupo

El marcador molecular que identificó mayor número de alelos frecuentes fue el GA-131 con nueve, seguido de SSRY-100 y GA-12 con frecuencia de ocho y siete alelos, siendo los marcadores mas polimórficos, respectivamente. En los grupos que se identificaron mayores frecuencias alélicas fueron el de la RAAS, seguido del grupo de las accesiones Internacionales, Río San Juan y León. El grupo de Matagalpa presentó menor frecuencia alélica en todos los *locus* analizados, encontrando menor riqueza alélica.

Diferenciación genética

El Análisis molecular de varianza (AMOVA) permitió describir los componentes intra e inter grupo de la varianza (Tabla 5). Considerando los datos generados por los nueve SSR analizados, no se encontró diferencia entre los grupos. Esto se debe a que es una misma especie y a que los grupos colectados corresponden a una agrupación geográfica. Sin embargo, se encontró una variación dentro de los grupos de un 100%, debido a la diferencia entre individuos. Estos resultados coinciden con el estudio realizado por Beovides *et al.* (2006), donde encontraron baja diferenciación entre los grupos locales, que tienen origen y/o están emparentados con los materiales de yuca, de los centros internacionales de mejoramiento genético tales como CIAT que están vinculados a la región.

Tabla 5. Análisis molecular de varianza en cinco grupos de accesiones de yuca según la región de colecta en Nicaragua.

Fuentes	GL	SC	CM	Variación estándar	% de Variación
Entre grupos	4	41.029	10.257	0.966	0.0
Dentro de grupos	47	522.029	11.107	11.107	100
Total	51	563.058		11.107	100

Grados de libertad (GL), suma de cuadrados (SC), cuadrado medio (CM)

Tabla 6. Distancia e identidad genética de Nei (1972) en cinco grupos de accesiones de yuca según la región de colecta en Nicaragua.

ID	Internacionales	León	Matagalpa	RAAS	Río San Juan
Internacionales	****	0.8114	0.8054	0.8999	0.9161
León	0.2089	****	0.8202	0.8148	0.8081
Matagalpa	0.2165	0.1983	****	0.8818	0.8510
RAAS	0.1054	0.2048	0.1258	****	0.9177
Río San Juan	0.0876	0.2131	0.1613	0.0859	****

*datos encima de la diagonal corresponden a identidad genética y por debajo de la diagonal a la distancia genética.

La mayor distancia genética se encontró en el grupo de Matagalpa comparado con el grupo de las accesiones Internacionales con 0.2165 (Tabla 6). Probablemente se deba a que las accesiones internacionales no están relacionadas con las accesiones existentes en Matagalpa. Esta región está ubicada en el centro del país y los agricultores se dedican más al cultivo de café (*Coffea* spp.), cacao (*Theobroma cacao* L.) entre otros y tiene menor importancia el cultivo de yuca. Esto reduce las probabilidades de que se hayan difundido accesiones a esta región.

La menor distancia genética se presentó entre el grupo de Río San Juan y el grupo de la RAAS con valor de 0.0859. Esto demuestra que las accesiones de estos dos departamentos están muy relacionadas entre sí, probablemente debido a que son departamentos vecinos, lo que facilita el intercambio de materiales vegetativos entre pequeños agricultores de la zona.

La menor identidad genética se expresó entre el grupo de las accesiones Internacionales y el de Matagalpa con valor de 0.8054. Esto

corroborar que a menor identidad existe mayor distancia genética entre el grupo comparado. Los grupos con mayor identidad genética fueron el de Río San Juan y el grupo de la RAAS con valor de 0.9177 (Tabla 6).

Análisis de componente principales (ACP)

El ACP permitió distinguir gráficamente la relación existente entre las accesiones, apoyado en la matriz de distancia genética de Nei (1972). Los componentes 1 y 2 explicaron la mayor variación con el 33.5% y 21%, respectivamente. Dada la distribución a nivel nacional de yuca mejorada, no se lograron distinguir grupos muy diferenciados, ya que existe una estrecha relación entre las accesiones nacionales y las introducidas, lo que puede estar vinculado al proceso de distribución de cultivares de yuca por los programas internacionales tales como CIAT.

Al mismo tiempo, permitió identificar duplicidad de accesiones. En este sentido se comprobó que BGN Y027 y BGN Y41 son idénticos, así mismo BGN Y34 con BGN Y45 y BGN Y26 y BGN Y35 (Figura 1).

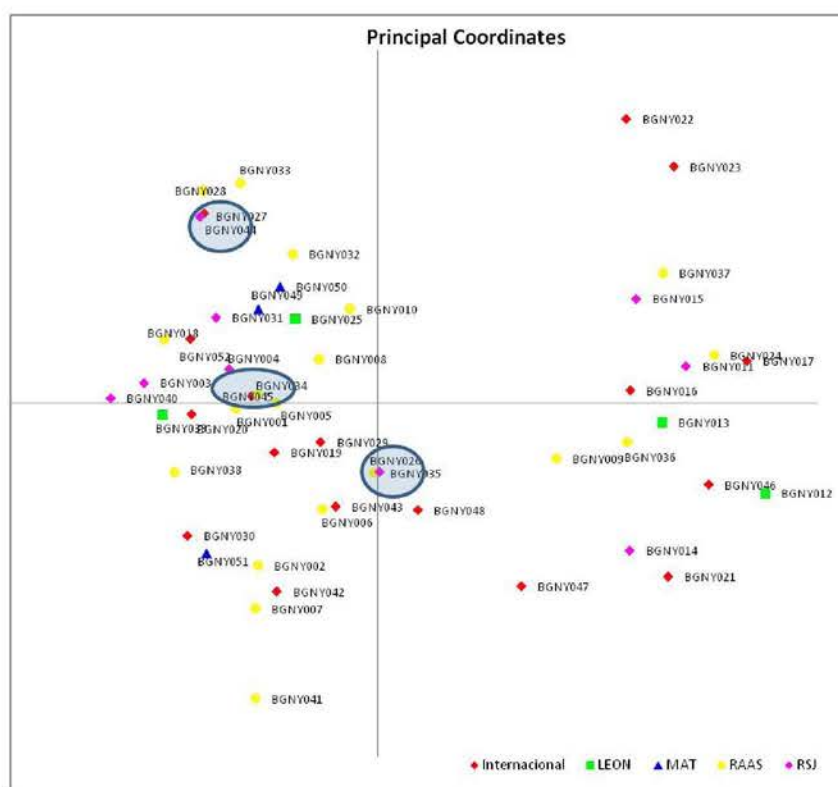


Figura 1. Análisis de componentes principales basados en la distancia de Nei (1972), de las 52 accesiones de yuca.

CONCLUSIONES

Se demostró la existencia de variabilidad genética en las accesiones de yuca colectadas en los principales departamentos productores de yuca de Nicaragua. Además, se encontró duplicidad de accesiones. Estos resultados permitirán seleccionar materiales vegetales diferentes mediante el uso de marcadores específicos de mejoramiento genético.

REFERENCIAS

- Beovides, Y, Fregene M, Alves A, Gutierrez, Buitrago C, Marin J, Milian M, Rodríguez S, Cruz J, Ruiz E, Guerra D, Toledo H, Roca O, Albert J, García J, Oliva M (2006) Análisis de diversidad genética mediante microsatélites (SSR) en cultivares de germoplasma cubano de yuca. *Biotecnología Vegetal* 6: 9-14
- Casalla, R (2003) Medición de la distancia genética en grupos de camarón blanco *Liptopenaeus vannamei* en la costa ecuatoriana. Tesis. MSc. Escuela superior politécnica del litoral, facultad de ingeniería marítima y ciencias del mar. Guayaquil. EC. 83 p.
- Chavarriaga, AP, MM Maya, MW Bonierbale, S Kresivich, MA Fregene, J Tohme, G Kochert (1998) *Microsatellites in cassava (Manihot esculenta Crantz): Discovery, inheritance and variability*. Theor Appl Genet 97: 493-501
- Dixon, A (2002) Simple sequence repeat SSR marker diversity in cassava *Manihot esculenta* Crantz landraces from Nigeria. Annual Report: Development and use of biotechnology tools for cassava improvement. CIAT. Cali. Annual Report: Output 8-43
- Doyle, JF, Doyle, JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15
- Excoffier, L, G Laval, S Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50
- INIDE, MAGFOR (2012) IV Censo Nacional Agropecuario. 64 páginas. [En Línea] Disponible en: <http://www.inide.gob.ni/> Consultado: 10 de mayo 2012
- Morrillo A (2009) Mapeo de regiones del genoma asociadas con el contenido de β -caroteno en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis. Dr. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Palmira, CO. 254 p.
- Nei, M (1972) Analysis of gene diversity in subdivided groups. *USA. Proceedings of the National Academy of Sciences* 70: 3321-3323

Peakall, R, PE Smouse (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295

Siqueira, M, R Jurema, E Queiroz, B Borges, J Kayo, J Pereira (2009) Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. Genetics and Molecular Biology 32: 104–110

Weir, B, C Cockerham (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38:1358-1370

Wilches, A (2004) Descripción de las herramientas moleculares y sus aplicaciones en la agricultura. Guatemala. Instituto de agricultura, recursos naturales y ambiente de la URL. Serie No. 15. 25

p. [En Línea]. Disponible en: <http://www.elpueblopresidente.com/AGROFORESTAL/6069.html> Consultado 08 marzo 2011

Yeh, FC, TJB Boyle (1997) POPGENE V.3.2. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany 129: 157

Zaldívar, M, O Rocha (2006) Diversidad genética y variación en la viabilidad de plantas cultivadas en sistemas agrícolas. Proyecto de investigación de la escuela de biología. CR. p. 23

Recibido: 15-6-2012
Aceptado: 8-10-2012