

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**EVALUACIÓN DE PROPIEDADES
NUTRICIONALES Y DE CALIDAD COMERCIAL EN
SIETE CENTROS DE DIVERSIDAD DE YUCA CON
GENOTIPIFICACIÓN PARA CONTENIDO DE
CIANURO**

María Alejandra Ospina Portilla

Escuela de Posgrados de la
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Colombia
Palmira, Colombia

2017

EVALUACIÓN DE PROPIEDADES NUTRICIONALES Y DE CALIDAD COMERCIAL EN SIETE CENTROS DE DIVERSIDAD DE YUCA CON GENOTIPIFICACIÓN PARA CONTENIDO DE CIANURO

María Alejandra Ospina Portilla

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Agrarias

Línea de Investigación: Fitomejoramiento

Directores:

Biólogo, M Sc., Ph. D. Luis Augusto Becerra López-Lavalle
Centro Internacional de agricultura Tropical – CIAT

Ing. Bio-Industria, Ph. D. Dominique Dufour
Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agrícola para el Desarrollo –
CIRAD

Ingeniero Agrónomo M Sc., Ph. D. Mario Augusto García Dávila
Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

Escuela de Posgrados de la
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Colombia
Palmira, Colombia

2017

Dedicatoria

*Él da la luz de su sol tanto a los malos
como a los buenos y envía la lluvia
sobre los justos y los injustos por igual
Mt 5:45*

*A mis amados padres Cristina y Eduardo
A mi esposo John Maynard
A mi hermano Christian
A mi amada Abuelita Alicia
Y a mí tía Ana por su apoyo incondicional.*

*Antes pensábamos que nuestro futuro estaba
en las estrellas. Ahora sabemos que está en
nuestros genes.*

James Watson

Agradecimientos

A Dios y a mí amada familia.

Al Programa de yuca del Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, al programa de Raíces, Tuberculos y Bananas – RTB y al Centro de cooperación internacional en investigación agronómica para el desarrollo – CIRAD.

Al Doctor Luis Augusto Becerra López-Lavalle, Líder del programa de yuca en CIAT, infinitas gracias por su dirección y apoyo, por compartir sus conocimientos que me han ayudado a mi crecimiento profesional y personal.

Al Doctor Dominique Dufour, por darme la oportunidad de tener mi primer acercamiento en la investigación científica en CIAT y permitirme desarrollar este proyecto, gracias por su dirección, tiempo y conocimientos transmitidos.

Al Doctor Mario Augusto García, gracias por su ayuda y dirección en este trabajo de investigación, por compartir sus conocimientos como docente.

Al Doctor Thierry Tran, gracias por su aporte científico para este proyecto de investigación.

A los profesores de la Maestría en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira: Franco Alirio Vallejo, Karina López y Jaime Eduardo Muñoz. A mis compañeros de clase Santos, Liliana, Mabel, Fabiana y Esteban por los tiempos de estudio y largos trasnochos.

Al equipo del laboratorio de calidad poscosecha de yuca dirigido por John Belalcázar. Con agradecimiento especial a Mónica Pizarro, Jorge Luna, William Triviño, Lisímaco Alonso, María Fernanda Zúñiga, Iván Hurtado, Francisco Giraldo, David Pabón y Álvaro Arroyo. Gracias por estos cuatro años de aprendizaje y crecimiento profesional, risas y buenos momentos en tiempos de cosecha.

Al equipo del Laboratorio de genética de yuca, Janneth Gutiérrez, Katherine Castillo, y Tatiana Ovalle. Al equipo del programa de mejoramiento de yuca, Doctor Hernán Ceballos, Sandra Salazar, Geovanny Fernández, Luis Quinayaz, Luis Becerra y Jefferson Gallego.

Al Señor Fernando Calle un agradecimiento especial por transmitirme sus experiencias y conocimientos sobre el cultivo de yuca.

Resumen

El cultivo de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), se considera de gran importancia para la seguridad alimentaria debido a que es la cuarta fuente de energía más importante para millones de personas de países tropicales. El objetivo de este estudio fue caracterizar 236 genotipos de yuca para contribuir a la comprensión de la diversidad fenotípica de la yuca, mediante la determinación de las propiedades nutricionales y de calidad comercial en raíces y hojas. También se identificó regiones en el genoma de la yuca que controlen la variación del contenido de cianuro usando la metodología de asociación de genoma completo (GWAS). Estos genotipos pertenecen a siete diferentes centros de diversidad (Amazonas, Andina, Sabana, Mesoamérica Caribe, Bosque Atlántico Húmedo, Bosque Atlántico seco y Selva tropical de América del Sur) que corresponden a centros de domesticación del género *Manihot*. Como resultado se identificaron 10 genotipos con alta materia seca, tolerancia al deterioro fisiológico poscosecha, bajo cianuro y buena calidad culinaria en sus raíces, parámetros que cumplen con los criterios de preferencias de los consumidores y las exigencias del mercado. También, se encontró que las hojas de yuca evaluadas fueron buena fuente de carotenos, proteína y aminoácidos como: valina, leucina, fenilalanina y lisina. Esta caracterización fenotípica permitió localizar en el cromosoma 13 y 11, cuatro SNPs significativamente asociados con el contenido de cianuro que se ubicaron cerca de los genes *Manes.13G079400*, *Manes.13G078400*, *Manes.13G084300*, *Manes.11G104200* y *Manes.11G104100*. Este estudio permitió obtener una importante información fenotípica de la diversidad genética útil para ser aprovechada en el mejoramiento de genotipos de yuca que se adapten a los nuevos requerimientos de productividad futura, nutrición y el medio ambiente.

Palabras clave: yuca, cianuro, calidad poscosecha, diversidad genética, GWAS

Abstract

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is considered of great importance for food security because it is the fourth most important source of energy for millions of people in tropical countries. The objective of this study was to characterize 236 cassava genotypes to contribute to the understanding of the genotypic diversity of cassava, through the determination of nutritional parameters and commercial quality parameters in roots and leaves. Also, regions in the cassava genome associated with the cyanide content variation were identified using using the methodology of genome wide association (GWAS). These genotypes were grouped into seven diversity centers (Amazon, Andean, Savannah, Mesoamerica Caribbean, Humid Atlantic Forest, Dry Atlantic Forest and Tropical Rainforest of South America) that correspond to zones of domestication of the *Manihot* genus. As a result, 10 genotypes were identified with high dry matter, tolerance to postharvest physiological deterioration, low cyanide content and good culinary quality. The previous parameters meet with consumer preferences and market demands. Also, it was found that the cassava leaves evaluated were a good source of carotenes, protein and amino acids such as: valine, leucine, phenylalanine and lysine. The GWAS study allowed to associate the characteristics of the 236 genotypes with regions in the cassava genome, locating on chromosome 13 and 11, four SNPs significantly associated with the cyanide content that were near the *Manes* genes.13G079400, *Manes*. 13G078400, *Manes*.13G084300, *Manes*.11G104200 and *Manes*.11G104100. This study allowed to obtain an important phenotypic information of the cassava genetic diversity useful to be exploited in the improvement of cassava genotypes that adapt to the new requirements of future productivity, nutrition and the environment.

Keywords: Cassava, Cyanide, Post-harvest quality, Genetic diversity, GWAS

Contenido

	Pág
Resumen	IX
Lista de figuras	XIV
Lista de tablas	XVI
Lista de Símbolos y abreviaturas	XVII
Introducción	1
1.1. Objetivo general	3
1.2. Objetivos específicos	3
1.3. Hipótesis	3
Marco de Referencia	4
2.1. El cultivo de yuca	4
2.2. Hojas de yuca	6
2.3. Raíces de yuca	7
2.3.1. Almidón de yuca	8
2.3.2. Harina de yuca	9
2.4. Preferencias de los consumidores y parámetros de calidad de poscosecha en raíces y hojas de yuca	10
2.5. Marcadores Moleculares	14
2.6. Marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNPs)	15
2.7. Secuenciación RAD	15
2.8. Estudio de asociación del genoma completo (Genome-wide association study, GWAS)	19
1. Capítulo 1	26
1.1 Introducción	28
1.2. Materiales y Métodos	29
1.2.1. Materiales	29
1.2.2. Determinación del contenido de materia seca	30
1.2.3 Determinación de la susceptibilidad al deterioro fisiológico poscosecha (DFP)	30
1.2.4. Cuantificación del contenido de ácido cianhídrico (HCN)	32
1.2.5. Análisis de tiempo óptimo de cocción y textura	33
1.2.6. Análisis estadístico	34
1.3 Resultados y Discusión	34
1.3.1. Caracterización de los genotipos de yuca evaluados	34
1.3.2. Análisis de varianza comparando los siete centros de diversidad	37
1.3.3. Análisis de correlación entre los parámetros de calidad poscosecha	40
1.3.4. Análisis de componentes principales entre los parámetros evaluados	41
1.3.5. Análisis de clúster entre los parámetros de calidad poscosecha	42
1.3.6. Relación entre tiempo de cocción y textura de las raíces de yuca cocinadas	44
1.4 Conclusiones	44
Referencias Bibliográficas	46
2. Capítulo 2	49
2.1. Introducción	50
2.2. Materiales y Métodos	51
2.2.1. Materiales	51
2.2.2. Cuantificación de carotenos en las hojas de yuca	51
2.2.3. Análisis de HCN total	52
2.2.4. Perfil de aminoácidos y cuantificación de proteína	52

	Pág
2.2.5. Análisis estadístico	54
2.3. Resultados y discusión	54
2.3.1. Caracterización de los genotipos de yuca evaluados	54
2.3.2. Caracterización de los siete centros de diversidad	56
2.4. Conclusiones	59
Referencias Bibliográficas	60
3. Capítulo 3.....	63
3.1. Introducción	64
3.2. Materiales y Métodos	65
3.2.1. Materiales	65
3.2.1.1. Producción de almidón de yuca	65
3.2.1.2. Producción de harina de yuca	66
3.2.2. Caracterización fisicoquímica de los almidones	67
3.2.3. Caracterización fisicoquímica de las harinas	69
3.2.4. Análisis estadístico	69
3.3. Resultados y Discusión	70
3.4. Conclusiones	79
Referencias Bibliográficas	80
4. Capítulo 4.....	83
4.1. Introducción	84
4.2. Metodología	85
4.2.1. Genotipado de polimorfismo de nucleótido único (SNP)	85
4.2.2. Estructura de la población	85
4.2.3. Análisis de asociación de elementos SNPs	86
4.2.4. Modelo de mapeo de la asociación	86
4.3. Resultados y Discusión	87
4.4. Conclusiones	90
Referencias Bibliográficas	90
5. Conclusiones y Recomendaciones.....	93
Anexo A: Resultados del análisis de GWAS	97
Anexo B: Resultados análisis de varianzas	99

Lista de Figuras

	Pág
Figura 0-1. El cultivar de yuca.....	5
Figura 0-2. Fotografías de hojas de yuca de diferentes genotipos.....	6
Figura 0-3. Corte transversal de una raíz de yuca.....	8
Figura 0-4. Comparación del genotipo TAI1 de bajo DFP y el genotipo COL2253 de alto PPD.....	11
Figura 0-5. Fotografía de dos genotipos de yuca con tiempo óptimo de cocción menor a 20 min.....	12
Figura 0-6. Marcador SNP (polimorfismo de un solo nucleótido).....	15
Figura 0-7. Ejemplo del proceso de RAD-seq.....	17
Figura 0-8. Centro de domesticación o diversidad del genero Manihot. Árbol filogenético.....	18
Figura 0-9. Localización de los centros de diversidad de yuca según Becerra Lopez-Lavalle et al., 2015.	19
Figura 1-1. Descripción visual de la evaluación de deterioro fisiológico poscosecha.....	31
Figura 1-2. Escala de evaluación y clasificación visual de deterioro fisiológico poscosecha....	31
Figura 1-3. Gráficos de frecuencias de distribución (a) Materia Seca (%); (b) HCN (ppm); (c) Deterioro fisiológico poscosecha (%); (d) Tiempo de cocción (min).....	35
Figura 1-4. Análisis de varianza para el parámetro %MS por cada zona de diversidad.....	37
Figura 1-5. Análisis de varianza para el parámetro HCN por cada zona de diversidad.....	38
Figura 1-6. Análisis de varianza para el parámetro DFP por cada zona de diversidad.....	39
Figura 1-7. Análisis de varianza para Tiempo de cocción por cada zona de diversidad.....	40
Figura 1-8. Resultados análisis de componentes principales.....	42
Figura 1-9. Clúster de los parámetros de calidad poscosecha.....	43
Figura 1-10. Relación entre tiempo de cocción y textura de las raíces de yuca cocinadas.....	44
Figura 2-1. Gráficos de frecuencias de distribución (a) HCN (ppm); (b) all trans- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$); (c) Carotenos totales ($\mu\text{g/g}$).....	55
Figura 2-2. Análisis de varianza para el parámetro HCN por cada zona de diversidad.....	57
Figura 2-3. Análisis univariado para el parámetro contenido de carotenos totales por cada zona de diversidad.....	58
Figura 2-4. Análisis univariado para el parámetro contenido de all trans- β -caroteno por cada zona de diversidad.....	59
Figura 3-1. Análisis univariado para el parámetro Vmax (cP) por cada zona de diversidad.....	71
Figura 3-2. Análisis univariado para el parámetro Vmin (cP) por cada zona de diversidad.....	71
Figura 3-3. Análisis univariado para el parámetro Vfinal (cP) por cada zona de diversidad.....	72
Figura 3-4. Análisis univariado para el parámetro TP ($^{\circ}\text{C}$).....	73
Figura 3-5. Análisis univariado para el parámetro contenido de amilosa (%)......	74

Lista de Figuras

	Pág
Figura 3-6. Análisis univariado para el parámetro claridez (%).....	75
Figura 3-7. Análisis univariado para el parámetro IS (%bs) por cada zona de diversidad.....	76
Figura 3-8. Análisis univariado para el parámetro PH (gAgua /gAlmidon).....	77
Figura 4-1. Diagramas de quantile-quantile (QQplot) para el diagnóstico de señales de asociación basadas en las mejores predicciones lineales e imparciales para el contenido total de HCN.....	87
Figura 4-2. Gráfico de Manhattan para el diagnóstico genómico de las señales de asociación que se basan en las mejores predicciones lineales no sesgadas para el contenido total de HCN.....	88

Lista de tablas

	Pág
Tabla 1-1. Resumen de los centros de diversidad evaluados y los genotipos que los conforman.....	32
Tabla 1-2. Selección de genotipos de yuca con óptimos parámetros de calidad poscosecha	36
Tabla 1-3. Resultados comparación de medias para el parámetro MS por cada zona de diversidad.....	38
Tabla 1-4. Resultados comparación de medias para el parámetro HCN por cada zona de diversidad.....	38
Tabla 1-5. Resultados comparación de medias para el parámetro DFP por cada zona de diversidad.....	39
Tabla 1-6. Resultados comparación de medias para Tiempo de cocción por cada zona de diversidad.....	40
Tabla 1-7. Resultados correlación de Pearson para los parámetros MS, HCN, DFP y Cocción	41
Tabla 1-8. Resultados análisis de componentes principales.....	41
Tabla 2-1. Resumen de los centros de diversidad evaluados en este estudio y los genotipos que los conformaron.....	53
Tabla 2-2. Cuantificación de aminoácidos y proteína en hojas de yuca.....	56
Tabla 2-3. Resultados comparación de medias para el parámetro HCN por cada zona de diversidad.....	57
Tabla 2-4. Resultados comparación de medias para el parámetro contenido de carotenos totales por cada zona de diversidad.....	58
Tabla 2-5. Resultados comparación de medias para el parámetro contenido de all trans- β -caroteno por cada zona de diversidad.....	59
Tabla 3-1. Resumen de los centros de diversidad evaluados en este estudio y los genotipos que los conformaron.....	66
Tabla 3-2. Propiedades funcionales y fisicoquímicas de los almidones analizados.....	70
Tabla 3-3. Resultados comparación de medias para el parámetro Vmax.....	71
Tabla 3-4. Resultados comparación de medias para el parámetro Vmin (cP).....	72
Tabla 3-5. Resultados comparación de medias para el parámetro Vfinal (cP).....	72
Tabla 3-6. Resultados comparación de medias para el parámetro TP (°C).....	73
Tabla 3-7. Resultados comparación de medias para parámetro contenido de amilosa (%).....	74
Tabla 3-8. Resultados comparación de medias para el parámetro claridez (%).....	75
Tabla 3-9. Resultados comparación de medias para el parámetro IS (%bs).....	77
Tabla 3-10. Resultados comparación de medias para el parámetro PH.....	77
Tabla 3-11. Correlación de Pearson para las variables de caracterización de los almidones....	78
Tabla 3-12. Parámetros de calidad de las harinas de yuca evaluadas.....	79
Tabla 4-1. Lista de SNPs con significado de asociación al genoma de yuca para el contenido de HCN.....	88
Tabla 4-2. Descripción de los posibles genes encontrados.....	89

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
Bs	Base peso seco
DE	Desviación estandar
DFP	Deterioro Fisiológico Poscosecha
GBS	Genotyping by Sequencing
GWAS	Genome wide association
HCN	Contenido de compuestos cianógenos
IS	Índice de Solubilidad
MS	Contenido de materia seca
NGS	Next-Generation Sequencing
NGSEP	Next Generation Sequencing Experience Platform
PH	Poder de Hinchamiento
QTL	Quantitative Trait Locus
Rad-seq	Restriction site Associated DNA Sequencing
RVA	Rapid ViscoAnalyzer
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TP	Temperatura de empastamiento
Vfinal	Viscosidad final
Vmax	Viscosidad máxima
Vmin	Viscosidad mínima

Introducción

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un cultivo perenne nativo de América tropical, con su centro de origen, en el noreste y centro de Brasil (Hillocks, Tresh y Bellotti, 2002). Se cultiva en regiones tropicales y subtropicales desde el nivel del mar hasta altitudes de 1.800 msnm (Alarcon y Dufour, 1998). Un cultivo capaz de soportar enfermedades y sequía, puede crecer en suelos deficientes en nutrientes. Por lo tanto, se cultiva y se consume, donde la pobreza y la malnutrición es significativa. Según FAOSTAT en 2014, la producción mundial de yuca fue 281,7 millones de toneladas en donde los principales países productores fueron: Nigeria (52.403.500 Ton), Indonesia (24.009.600 Ton), Tailandia (21.912.400 Ton). Colombia ocupó el puesto 39 con una producción anual 2.264.460 Ton.

Las raíces de yuca se consideran de gran importancia para la seguridad alimentaria debido a que es uno de los alimentos de mayor fuente de energía en la dieta alimentaria del mundo, mientras que las hojas de yuca son un subproducto poco utilizado en la alimentación humana a pesar de que son fuente de proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales (Bradbury y Denton, 2014). La utilización de hojas de yuca en el consumo humano y animal se da principalmente en países de África central donde se cultivan todo el año (Achidi, Ajayi y Bokanga *et al.*, 2005) y también se utiliza en la alimentación animal en países como Brasil, Perú, Indonesia, Tailandia y Nigeria.

El consumo de raíces y de hojas de yuca en grandes cantidades puede ser desventajoso si tiene alto contenido en compuestos cianógenicos, lo cual puede ser causa de intoxicación por cianuro (Nhassico, Muquingue y Acantilado *et al.*, 2008), por eso esta investigación busca caracterizar y seleccionar genotipos de *Manihot esculenta* Crantz por parámetros de calidad poscosecha en hojas y raíces, estableciendo asociaciones genéticas. Desafortunadamente la determinación de la variabilidad genética para las características de calidad poscosecha de hojas y raíces de yuca son limitadas en *Manihot esculenta* Crantz. Por lo tanto, se requiere identificar genotipos de yuca que expresen contenido diferencial y significativo en el contenido de compuestos carotenoides, proteínas, aminoácidos esenciales y compuestos cianógenicos, de tal forma que permita

la obtención de nuevas fuentes de genes, que promueva la posibilidad, de direccionar programas de mejoramiento genético y lograr realizar el seguimiento a la segregación genética haciendo uso de las herramientas moleculares y que permita obtener genotipos mejorados haciendo uso del mejoramiento convencional asistido por marcadores moleculares.

No obstante, los avances recientes en las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) han hecho que el análisis de asociación del genoma basado en el desequilibrio de ligamiento (GWAS) sea una herramienta favorable para mapear rasgos complejos en plantas superiores (Davey y Blaxter, 2010). Ahora es práctico usar plataformas de genotipado de alta densidad como secuenciación GBS para generar rápidamente millones de puntos de datos de marcadores que se distribuyen a lo largo de un genoma para facilitar la mejora genética en las plantas (He *et al.*, 2014). Por ejemplo, Owens *et al.*, 2014 y Suwarno *et al.*, 2015 han utilizado estas plataformas NGS para identificar polimorfismos relacionados con el aumento del contenido de carotenos en el maíz, lo que sin duda proporciona una base para la biofortificación sistemática de provitamina A. Con más del 97% del genoma de la yuca secuenciado (Prochnik *et al.*, 2012), ahora es posible utilizar GBS (Elshire *et al.*, 2011) y GWAS (Oliveira *et al.*, 2012) para anclar con precisión polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) vinculado a los rasgos de interés. De hecho, estas plataformas hacen que sea fácil inferir funciones de tales polimorfismos basados en anotaciones de las regiones genómicas donde están posicionadas. Rab *et al.*, 2014 utilizaron los datos de SNPs generados a partir de la plataforma GBS para desarrollar un mapa genético de alta resolución que identificó las regiones genómicas de la yuca que controlan la resistencia a los geminivirus de mosaico de la yuca.

Es en este contexto, que con este estudio se requiere identificar nuevas fuentes de genes a partir de: a) 236 genotipos de yuca con contenido significativo y contrastante de materia seca, compuestos cianógenicos y susceptibilidad al deterioro fisiológico pos cosecha. b) 112 genotipos de yuca que expresen contenido diferencial y significativo de proteínas, carotenos y aminoácidos en sus hojas. c) 73 genotipos de yuca que expresen características de calidad (físicoquímica y funcional) en sus harinas y almidones.

1.1. Objetivo General

Evaluar propiedades nutricionales y calidad comercial en hojas y raíces de clones de yuca pertenecientes a siete centros de diversidad

1.2. Objetivos Específicos

- ❖ Caracterizar raíces de yuca por el contenido de materia seca, compuestos cianógenicos, susceptibilidad al deterioro fisiológico pos cosecha y tiempo de cocción
- ❖ Evaluar parámetros fisicoquímicos y funcionales en harinas y almidones obtenidos de los clones de yuca.
- ❖ Caracterizar hojas de yuca por su contenido en proteínas, cianuro, carotenos y aminoácidos.
- ❖ Identificar regiones en el genoma de la yuca asociadas con el parámetro de calidad contenido de cianuro empleando el método de GWAS.

1.3. Formulación de la hipótesis

- ❖ Ho: No es posible identificar regiones en el genoma relacionadas con el parámetro de calidad contenido de cianuro empleando el método de GWAS.
- ❖ Ha: Es posible identificar regiones en el genoma relacionadas con el parámetro de calidad contenido de cianuro empleando el método de GWAS.

Marco de referencia

2.1. El cultivo de Yuca

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es una especie de raíz amilácea que se cultiva en los trópicos y los subtrópicos, originaria de América tropical y perteneciente a la familia de las Euforbiaceas (Alarcon y Dufour, 1998). Es un arbusto perenne de tamaño variable, que puede alcanzar los 3 m de altura. Su tallo es cilíndrico y el diámetro oscila entre 2 y 6 centímetros. Las hojas son largas, gruesas, rígidas y ensiformes. Sus flores son pequeñas. La raíz es un tubérculo alargado, tiene una corteza externa de aspecto leñoso y una interna que es de color blanco o rosado. El rendimiento de raíces por planta suele ser de 1-3 kg, pudiendo llegar en óptimas condiciones hasta 5 -10 kg/planta (Cock, 1983).



Figura 0-1: Cultivar de yuca (Autor)

La yuca es la cuarta fuente más importante de calorías en los trópicos, después del arroz caña y el maíz. Este cultivo de raíces voluminosas y sumamente percederas es tolerante a la sequía y a los suelos degradados, tiene gran rendimiento por hectárea y una gran flexibilidad para la siembra y la cosecha. Miles de personas dependen de la yuca en África, Asia y América Latina. (FAO, 2008). La yuca se clasifica en variedades dulces y amargas,

de acuerdo al contenido de cianógenos (HCN). El 60% de peso en fresco de la raíz es agua, el 34.9% carbohidratos y 1.2% de proteínas. (Montalvo y Gunz, 1983).

Según las estadísticas de la FAO en 2014, los principales países productores de yuca fueron: Nigeria (52.403.500 Ton), Indonesia (24.009.600 Ton) y Tailandia (21.912.400 Ton). Mientras que Colombia ocupó el puesto 21 con una producción anual 2.264.460 Toneladas. En Colombia, el cultivo de yuca se comercializa en cuatro canales de distribución según sus usos principales: raíz fresca y procesada para consumo humano, insumo en la industria alimenticia, materia prima en la industria productora de alimentos balanceados para animales y como producto intermedio en la industria no alimenticia. (Banco de la Republica de Colombia, 2012).

2.2. Hojas de yuca

Las hojas jóvenes o tiernas de la yuca se utilizan para el consumo humano en países como Indonesia, Filipinas, Malasia y en la región de África subsahariana (Latif y Müller, 2015). Estas hojas contienen hasta un 25% de proteínas y son una valiosa fuente de vitaminas, B1 y B2, carotenoides, fósforo, magnesio, potasio y calcio (Siqueira *et al.*, 2007; Ravindran y Ravindran, 1988). También, se ha reportado que las hojas de yuca contienen vitamina C hasta 742 mg por 100 g de hojas frescas (Lancaster y Brooks, 1983). El precio en el mercado de las hojas de yuca en las zonas en las que se consumen suele ser superior al de las raíces.



Figura 0-2: Fotografías de hojas de yuca de diferentes genotipos (Autor)

Las hojas de yuca son ricas en proteínas, pero esta proteína es limitante en los aminoácidos que contienen metionina y cisteína (Bradbury y Denton, 2014). En 1976, Yeoh

y Chew evaluaron el contenido de proteína de seis variedades de yuca que variaron desde 242 hasta 953 kg por hectárea, el total de aminoácidos varió desde 8,42 hasta 9,4%, mientras que los aminoácidos esenciales variaron en promedio 4,21% y el 0,25%.

Las hojas de yuca contienen ciertas cantidades de glucósidos cianogénicos y linamarina que se divide por la enzima linamarasa presente en las hojas para producir cianohidrininas que se descomponen aún más por la enzima hidroxinitriloliasa para obtener el cianuro de hidrógeno (HCN) y una cetona (Bradbury y Denton, 2011). Estos compuestos anti-nutricionales son metabolitos secundarios producidos por las plantas como método de defensa contra insectos, animales herbívoros, hongos y virus (Araujo, 2008). El contenido de cianuro en las hojas es mal alto que el encontrado en la raíces, por esto para su consumo es necesario que pasen por procesos de lavado, picado, molienda, o que se hierven en agua con el fin de eliminar o disminuir el contenido de compuestos cianogénicos a nivel no tóxicos que permitan su consumo (Bradbury y Denton, 2011; Lancaster y Brooks, 1983; Ngudi, Kuo y Lambein, 2003).

2.3. Raíces de yuca

El contenido de proteína en las raíces de yuca es aproximadamente del 1 al 2% del contenido total en base seca. También, las raíces de yuca contienen del 30 al 40% de materia seca, esto depende de factores como las condiciones climáticas donde se ha sembrado el cultivo, la variedad y la edad de las raíces al momento de la cosecha. El almidón conforma el 90% de la raíz y la energía metabolizable de la yuca es de 3500 a 4000 Kcal /g. (Ceballos y De La Cruz, 2002). Las raíces contienen cantidades significativas de vitamina C, tiamina, riboflavina y niacina. Las raíces de yuca cruda contienen además linamarina y lotaustralina, dos glucósidos que se convierten en ácido cianhídrico al entrar en contacto con la linamarasa. La mayor concentración de los compuestos cianogénicos se encuentran en la capa externa de la raíz, por lo tanto quitar la corteza de la yuca ayuda a reducir el cianuro. El parénquima de yuca se lava, se troza o se hierva en agua, lo que reduce aún más los niveles de cianuro. Además, se puede reducir la toxicidad de las raíces de la yuca al molerla, rallarla y fermentarla. El consumo de yuca con alto contenido de cianuro se ha relacionado con el bocio, el konzo y trastornos por carencia de yodo. (Cock, J. 1983).

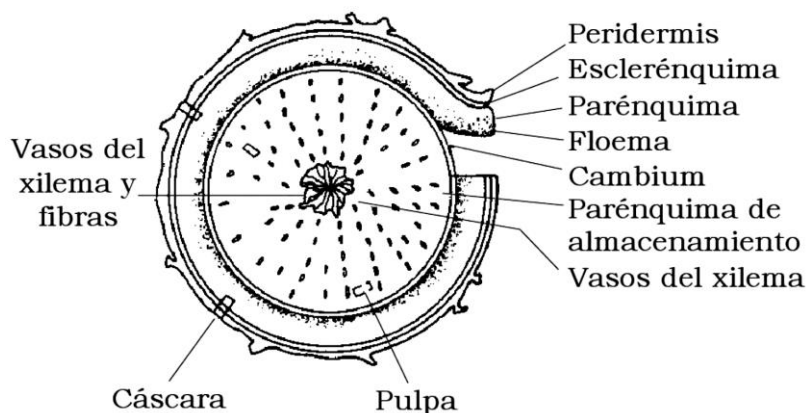


Figura 0-3: Corte transversal de una raíz de yuca (Domínguez *et al.*, 1983)

2.3.1. Almidón de yuca

El almidón es el mayor componente en la raíz de yuca, sus gránulos son redondos con terminales truncados y de núcleo definido, su contenido proteico es muy bajo (0.1%), al compararlo con la proteína existente en el almidón de arroz y de maíz (0.45% a 0.35% respectivamente) (Aristizabal y Sánchez, 2007). El almidón de yuca contiene entre 16 a 17% de amilosa, 83-84% de amilopectina, 40% de cristalinidad, baja temperatura de gelatinización y buena estabilidad del gel (Ospina *et al.*, 2002) debido a esto se utiliza como materia prima en la elaboración de productos alimenticios e industriales. Su uso depende de la proporción de amilosa y amilopectina que determina la viscosidad, gelatinización, textura, solubilidad del almidón. (FAO, 2006).

La raíz de yuca contiene más almidón, por peso en seco, que casi cualquier otro cultivo alimentario, y su almidón es fácil de obtener con tecnologías sencillas. En América Latina y el Caribe está creciendo la producción comercial de almidón de yuca, con una fuerte tendencia a la producción de almidones modificados e hidrolizados, que obtienen precios más altos. Sin embargo, la extracción de almidón representa una parte muy pequeña del total de la producción de yuca. (FAO, 2006)

La obtención de almidón agrio o fermentado de yuca tiene las mismas etapas de producción del almidón nativo, con la diferencia de que incluye una etapa de fermentación previa al secado al sol, lo que le da a este almidón propiedades de expansión en el

horneado. El almidón agrio tiene características especiales de sabor, textura y olor que son deseables en la panificación. Se emplea en la elaboración de productos horneados como pandebono, pandeyuca y bocadillos tales como rosquillas (Alacón y Dufour, 1998).

También, existe el almidón waxy o libre de amilosa de yuca. Según Sánchez *et al.*, 2010, la falta de amilosa en el almidón significa que gelatiniza fácilmente; obteniéndose pastas claras con viscosidades más altas. Estos autores compararon las propiedades funcionales del almidón Waxy AM206-5 de yuca frente al almidón de yuca normal, encontrando que la longitud de onda de máxima absorción (λ_{max}) fue 535 nm frente a 590nm; el poder de hinchamiento fue de 54,7% frente a 40%; la solubilidad a 90°C fue de 8,8% frente a 7,3%, las propiedades de la pasta (RVA 5%) la viscosidad máxima fue de 1119 cP frente a 954 cP. También, Sánchez *et al.*, 2010, descubrieron que la sinéresis en los geles del almidón waxy de yuca se mantienen en condiciones de refrigeración hasta por cinco semanas, esto lo convierte en un ingrediente prometedor para alimentos refrigerados o congelados.

2.3.2. Harina de yuca

Según la norma del Codex Stan 176-1989, la harina de yuca es un producto blanco y fino, que se obtiene de la raíz de yuca *Manihot esculenta* Crantz, con un proceso de pulverización, secado y molienda, seguido del cernido para separar la fibra de la harina. Los parámetros de calidad especifican el contenido de humedad máximo de 13% p/p, y el contenido de ácido cianhídrico no debe exceder a 10 mg / kg.

La harina de yuca, (*Manihot esculenta* Crantz) contiene además de almidón, azúcares y fibra que lo convierten en un buen sustituto de la harina de trigo, en productos de panificación, condimentos, pastas y embutidos. Además, se emplean como insumos en la elaboración de alimentos balanceados para animales. El interés de los productores de alimentos por sustituir en ciertos porcentajes la harina de trigo, por el empleo de la harina de yuca, se ha ido incrementado en los últimos años, debido al aumento en los precios del trigo a nivel mundial; generado por la pérdida de cultivos, costos en aranceles y el cambio climático.

En Colombia, la harina de yuca se usa en tortas, pan, galletas, buñuelos, purés, salsas, rosquitas, harinas, aperitivos o snacks, croquetas y arepas precocidas que se congelan y posteriormente se consumen fritas (Aguilera, 2012).

2.4. Preferencias de los consumidores y parámetros de calidad de poscosecha en raíces y hojas de yuca

Con base en la bibliografía, se identificó los posibles parámetros de calidad que los consumidores podrían considerar al comprar y consumir raíces y hojas de yuca. Los cuales se describen y definen a continuación:

a. Contenido de compuestos cianogénicos (HCN)

Entre los mecanismos de defensa de las plantas se encuentra la síntesis de sustancias potencialmente tóxicas. Algunas plantas como la yuca sintetizan glucósidos que liberan ácido cianhídrico por un proceso enzimático cuando se dañan mecánicamente. Los glucósidos cianogénicos tienen como estructura general, un grupo nitrilo unido a un carbono que tiene unido a su vez un azúcar mediante un enlace glicosídico y dos grupos distintos que varían dependiendo de cuál sea el glucósido (CODEX, 2013).

Las plantas de yuca, incluidas las raíces, también contienen la enzima linamarasa que descompone los glucósidos cianogénicos para liberar cianhidrinas, que se disocian a bajos niveles de acidez para producir ácido cianhídrico. El ácido cianhídrico es un compuesto inestable que se evapora rápidamente en la atmósfera a una temperatura de 28°C y se disuelve con rapidez en el agua. Se puede eliminar fácilmente durante el transporte, el almacenamiento y el análisis de las muestras. El consumo de grandes cantidades de cianógenos proveniente de las raíces y hojas de yuca mal procesados puede conducir a la intoxicación con síntomas de dolor de cabeza, náuseas, mareos, diarrea, vómitos y algunas veces la muerte (Nhassico, Muquingue y Acantilado *et al.*, 2008; Cardoso, Mirione y Massaza *et al.*, 2005).

Las variedades con alto contenido de HCN en hojas y raíces de yuca son mucho más comunes que las variedades de bajo contenido en la mayor parte del mundo. Los agricultores cultivan los genotipos de alto contenido de HCN para la obtención de harinas y almidones y los genotipos con bajos niveles de HCN se destinan al consumo en fresco para cocción. Como no se han encontrado genotipos sin cianuro, la estrategia de los programas de mejoramiento se ha centrado principalmente en la reducción a niveles bajos en lugar de la eliminación completa (Hershey, 1993).

b. Deterioro fisiológico poscosecha (DFP) en raíces de yuca

Una de las limitaciones para aumentar el consumo de yuca es la dificultad de conservar las raíces después de la cosecha (Zainuddin *et al.*, 2017). Visualmente, DFP se caracteriza por una decoloración azul, negra o marrón del parénquima vascular, que comienza a aparecer dentro de las 24-72 h de la cosecha, en forma de anillo en la periferia de la pulpa, la cual se observa en cortes transversales de la raíz. (Reilly *et al.*, 2004). El deterioro poscosecha puede ser prevenido con el uso de buenas prácticas de cosecha que eviten los daños ya que las raíces sanas permanecen sin deteriorarse durante un tiempo considerablemente más largo en comparación con las raíces heridas o golpeadas (Aristizabal y Sánchez, 2007). La coloración típica del deterioro fisiológico se debe a la presencia de pigmentos de taninos, cuya formación está relacionada con la presencia en los tejidos de un compuesto fenólico llamado escopoletina (Bayoumi *et al.*, 2008). Dicho compuesto generalmente no se encuentra en las raíces frescas o, si lo hay, está en muy bajas concentraciones; sin embargo, a las pocas horas de la cosecha su concentración aumenta considerablemente (Uarrota *et al.*, 2015).



Figura 0-4: Comparación del genotipo TAI1 de bajo DFP y del genotipo COL 2253 de alto DFP
(Autor)

c. Tiempo óptimo de cocción y calidad culinaria de las raíces de yuca.

La calidad sensorial de las raíces de yuca es un factor importante para la aceptación de nuevos cultivares mejorados por parte de los agricultores y consumidores finales (Padonou *et al.*, 2005). Para los consumidores, una buena yuca tarda entre 15 y 20 minutos en cocinar después de hervir. En la olla a presión, solo debería tomar 5 minutos (Hershey, 1993). En cuanto al sabor, el contenido de cianuro vuelve amarga las raíces hervidas. Con respecto a la textura, la friabilidad o la harinosidad es el atributo de calidad más importante de la yuca hervida (Favaro *et al.*, 2008; Ngeve, 2003). La friabilidad parece estar relacionada con las propiedades funcionales del almidón, como la viscosidad, el potencial de cianuro y el contenido de agua en la raíz (Padonou *et al.*, 2005) Algunas variedades de yuca se consideran dulces, mientras que otras tienen un sabor más neutral. La yuca se considera fibrosa cuando algunas hebras son difíciles de masticar, esta es una característica indeseable y es muy difícil de detectar visualmente (Franck *et al.*, 2011)

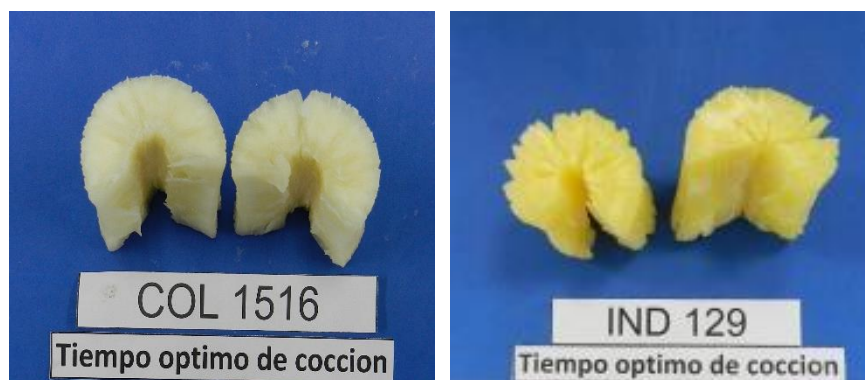


Figura 0-5: Fotografías de dos genotipos con tiempo de cocción menor a 20 min (Autor)

d. Contenido de almidón o materia seca en las raíces de yuca

La materia seca (MS) puede variar de aproximadamente 15% a 45%, dependiendo del genotipo y las condiciones ambientales (Sánchez, 2013). Las industrias procesadoras de almidón y harina de yuca consideran el contenido de materia seca en las raíces como un criterio clave de aceptabilidad. La materia seca tiene una heredabilidad de sentido estrecho

moderadamente alta. La amplia variación genética parece estar disponible en variedades locales de la mayoría de las regiones (Morante *et al.*, 2010). El contenido de materia seca se midió a lo largo de las raíces y varió de 14.1 a 51%. MS tendía a ser menor en el centro de la raíz y en las secciones distales. También, afectó la homogeneidad de la matriz de alimentos y, por lo tanto, contribuyó en la variación espacial en la retención de carotenoides (Ceballos *et al.*, 2012)

e. Contenido de compuestos carotenoides en hojas de yuca

Los carotenos son moléculas precursoras de la vitamina A de color amarillo que existen en las plantas y algunas veces su color puede estar enmascarado por el pigmento vegetal verde clorofila, que con frecuencia se encuentra en íntima asociación con los carotenos. Hay diversos tipos de carotenos. Uno de ellos, es el all-trans- β -caroteno, el cual es la fuente más importante de vitamina A en las dietas de la mayoría de las personas. (FAO, 2002). La FAO y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan el consumo de 750 μg de Vitamina A por día para adultos, las madres lactantes necesitan 50 por ciento más y los niños cantidades menores. La ingesta de vitamina A reduce la mortalidad en bebés y en niños de ciertas poblaciones, reduce las muertes en los casos de sarampión, funciona como antioxidante liposoluble y aumenta la eficiencia del sistema inmunológico y cardiovascular, su carencia provoca ceguera y otros problemas en los tejidos epiteliales. (Guzmán, Hernández y Ortega *et al.*, 2009; Northrop Clewes y Thurnham, 2002). Tanto las raíces como hojas de yuca son fuente de compuestos carotenoides.

f. Contenido de proteína y aminoácidos en hojas y raíces de yuca

Las proteínas son biomoléculas orgánicas de alto peso molecular que están formadas por carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), y con cierta frecuencia hierro (Fe) y magnesio (Mg), entre otros. Las proteínas pueden sufrir desnaturalización debido a que factores como el pH, la temperatura, radiaciones y detergentes, entre otros, actúan alterando los enlaces normales de la proteína, causando la pérdida de su forma y por lo tanto, también de su función. (Fennema, 2000).

Las proteínas son necesarias para el crecimiento y la reparación de los tejidos corporales, también son el principal componente estructural de las células y tejidos. Las proteínas son necesarias para el crecimiento y el desarrollo corporal, para el mantenimiento y la

reparación del cuerpo, y para el reemplazo de tejidos desgastados o dañados, para producir enzimas metabólicas y digestivas como constituyentes esenciales de ciertas hormonas, por ejemplo, tiroxina e insulina. (FAO, 2002).

Las proteínas son largas cadenas constituidas por un gran número de subunidades llamadas aminoácidos, los cuales están formados por un carbono asimétrico al que se le unen un grupo amino (-NH₂), otro carboxilo (-COOH) y un grupo R que le da las características particulares a cada uno de ellos. (Fennema, 2000). Existen en la naturaleza un gran número de aminoácidos, pero sólo veinte forman a las proteínas, nueve de estos no pueden ser sintetizados por las células, por lo tanto, tienen que ser ingeridos en los alimentos y se les conoce como aminoácidos esenciales, el resto son los aminoácidos no esenciales, ya que las células pueden elaborarlos. (Arboledas, 2011).

El rendimiento de proteína fue de 1334 kg / ha en Nigeria. En peso fresco, se informó que el contenido de proteína era 4.0-9.6% mientras que era 20.6-36.4% MS (Lancaster & Brooks, 1983). Por tanto, las hojas de yuca ofrecen un gran potencial para la extracción de proteínas.

2.5. Marcadores moleculares

Un marcador molecular es un fragmento de ADN que por sí solo, o combinado en alineación con otros, puede ser físicamente localizado dentro del genoma de un organismo. Tales fragmentos pueden encontrarse cerca de un gen que codifica una característica de interés o en regiones que, sin ser codificantes, contienen características estructurales particulares. Una de las características de los marcadores moleculares es que son específicos para cada individuo, grupo de individuos, especies o aún de grupos sistemáticos mayores, lo cual los convierte en herramientas útiles para el análisis tanto de individuos como de poblaciones (Karp y Edwards, 1997).

Los marcadores moleculares están basados en: (1) Técnicas de hibridación de ácidos nucleicos: RFLPs (Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción) y Minisatelites ó (2) Técnicas de PCR (reacción en cadena polimerasa): RAPDs (Amplificación aleatoria de ADN polimórfico), Microsatelites, AFLPS (Polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados)

2.6. Marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNPs)

Los marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNPs) corresponden a una variación en una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) en una secuencia del genoma y pueden originarse por transiciones o transversiones. En las transiciones es sustituida una base por otra que pertenece a la misma categoría química (una purina por otra purina o una pirimidina por otra pirimidina), mientras que en las transversiones ocurre lo contrario (una purina por una pirimidina y viceversa). (Sachidanandam *et al.*, 2001)

Los SNPs pueden estar presentes en regiones codificadoras o no codificadoras, así como en regiones intergénicas del genoma. Inicialmente, estos polimorfismos se observaron en regiones que codifican genes indispensables para la expresión de proteínas. Los SNPs que se encuentran al inicio de regiones que codifican proteínas pueden ejercer efectos sobre varios eventos epigenéticos, splicing genético, sitios de unión de los factores de transcripción, regulación de promotores y RNAs no codificantes (Chávez y Martínez, 2010).

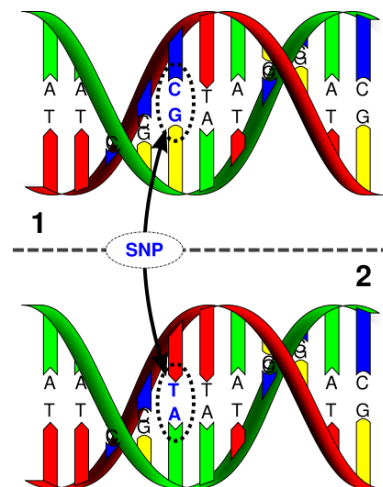


Figura 0-6: Marcador SNP (polimorfismo de un solo nucleótido)

Fuente: Genetics, 2015 <http://knowgenetics.org/snps/>

2.7. Secuenciación RAD

Secuenciación Rad (secuenciación de ADN asociada al sitio de restricción) se desarrolló como un método para el descubrimiento y genotipificación simultáneos de decenas de miles de marcadores genómicos (Baird *et al.*, 2008). Puede usarse para análisis genéticos

de poblaciones o para construir mapas genéticos. La secuenciación RAD no requiere un genoma de referencia y proporciona una forma económica de genotipificación de marcadores genómicos. Recientemente, el método de secuenciación de ADN asociado a sitio de restricción (RAD-seq), que permite secuenciar rápidamente miles de regiones homólogas en cientos de individuos, con y sin genomas de referencia disponibles, se ha aplicado para resolver relaciones filogenéticas (Herrera y Shank, 2015; Leaché *et al.*, 2015). El proceso RAD produce dos tipos de marcadores. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) dentro del sitio de reconocimiento de la enzima de restricción conducen a etiquetas RAD dominantes, mientras que los SNP bialélicos en secuencias adyacentes al sitio de la enzima se descubren en los padres y se anotan co-dominantemente en la progenie. Los SNPs son características de ADN estables, heredables y abundantes, que son marcadores preferidos para el mapeo de enlaces y los estudios de asociación de todo el genoma que requieren un gran número de marcadores.

El proceso de RAD-seq fue descrito por Davey *et al.*, 2011(Figura 0-7). (A) El ADN genómico se cizalla con una enzima de restricción de elección (Sbfl). (B) El adaptador P1 se liga a fragmentos cortados con Sbfl. El adaptador P1 está adaptado del adaptador de secuencia Illumina, con un identificador molecular (MID; CGATA en este ejemplo) y un saliente del sitio de corte al final (TGCA en este ejemplo). (C) Las muestras de múltiples individuos se agrupan y todos los fragmentos se cortan aleatoriamente. Solo un subconjunto de los fragmentos resultantes contiene sitios de restricción y adaptadores P1. (D) El adaptador P2 está ligado a todos los fragmentos. El adaptador P2 tiene un final divergente. (E) Amplificación por PCR con cebadores P1 y P2. El adaptador P2 se completará solo en los fragmentos ligados con el adaptador P1, por lo que solo estos fragmentos se amplificarán por completo. (F) Las muestras agrupadas con diferentes MID se separan bioinformáticamente y los SNP se llaman (C / G SNP subrayado). (G) A medida que los fragmentos se cizallan aleatoriamente, las secuencias finales emparejadas de cada fragmento secuenciado cubrirán una región de 300-400 pb.

Becerra *et al.*, 2015 han utilizado el 20% de las 6240 accesiones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) del banco de germoplasma del Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT ubicado en Colombia, estas accesiones han sido seleccionados para el comprender la diversidad genética del genero *Manihot* usando la información de

georeferencia y la frecuencia de las variedades locales de yuca para programas de mejoramiento en generación de líneas de cultivo élite.

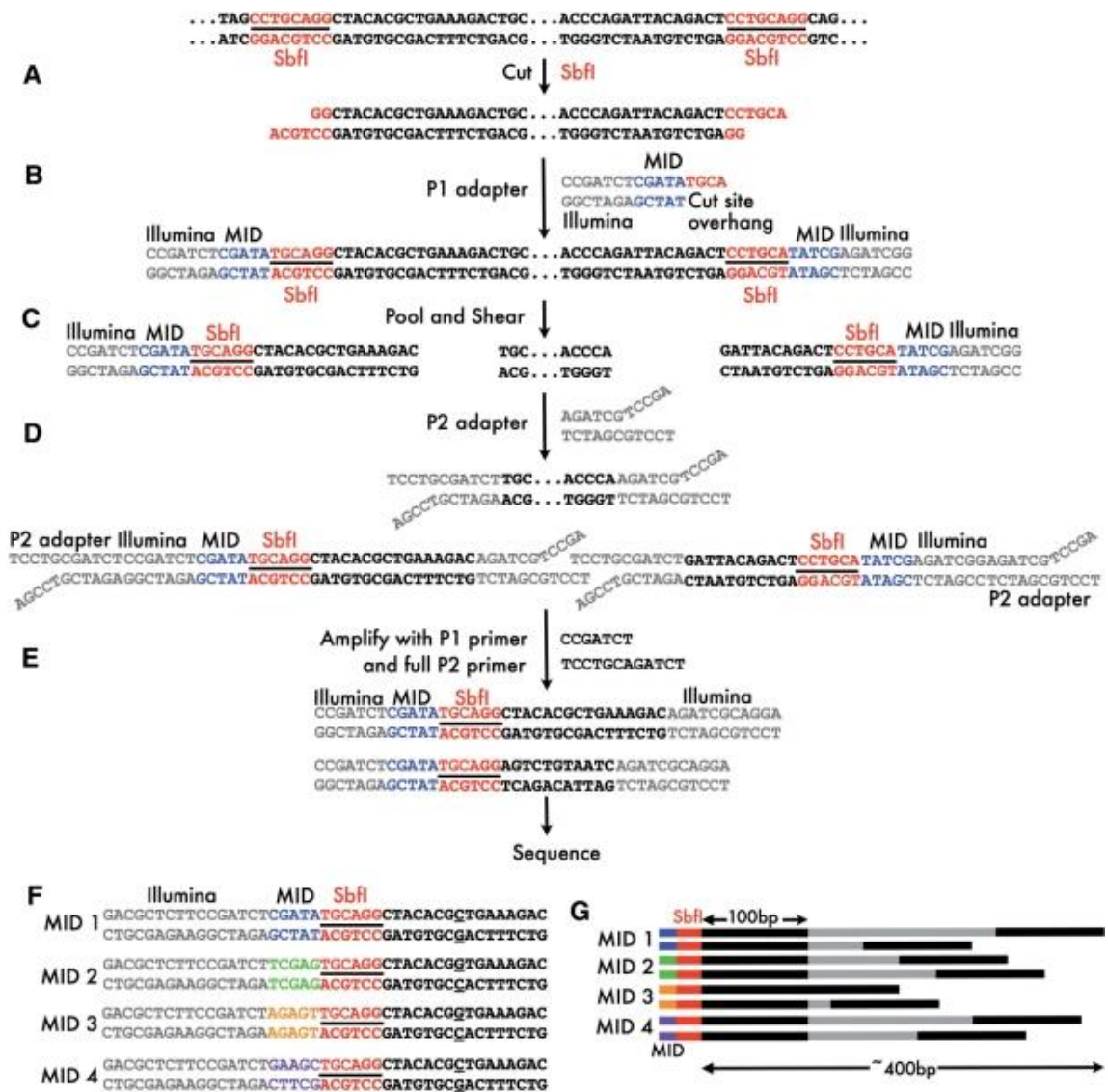


Figura 0-7: Ejemplo proceso de RAD-seq (Davey et al., 2011)

Becerra *et al.*, 2015, utilizó NGSEP y SNPs para construir loci a partir de secuencias de corta duración, como las generadas en la plataforma de illumina. El NGSEP se desarrolló para trabajar con datos basados en enzimas de restricción, como RAD-seq con el propósito de realizar genómica poblacional y filogenia. En total, se obtuvieron 18,286 SNPs a partir de 292 razas nativas de yuca, obteniendo así siete subpoblaciones (Amazonas, Zona Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico

seco y húmedo). Los enfoques de secuenciación de nueva generación nos han proporcionado un nuevo nivel de comprensión de cómo la yuca puede haberse domesticado en América Latina. A partir de este estudio hemos seleccionado 236 genotipos clasificados en los siete centros de diversidad para realizar la caracterización por propiedades nutricionales y de calidad comercial en hojas y raíces.

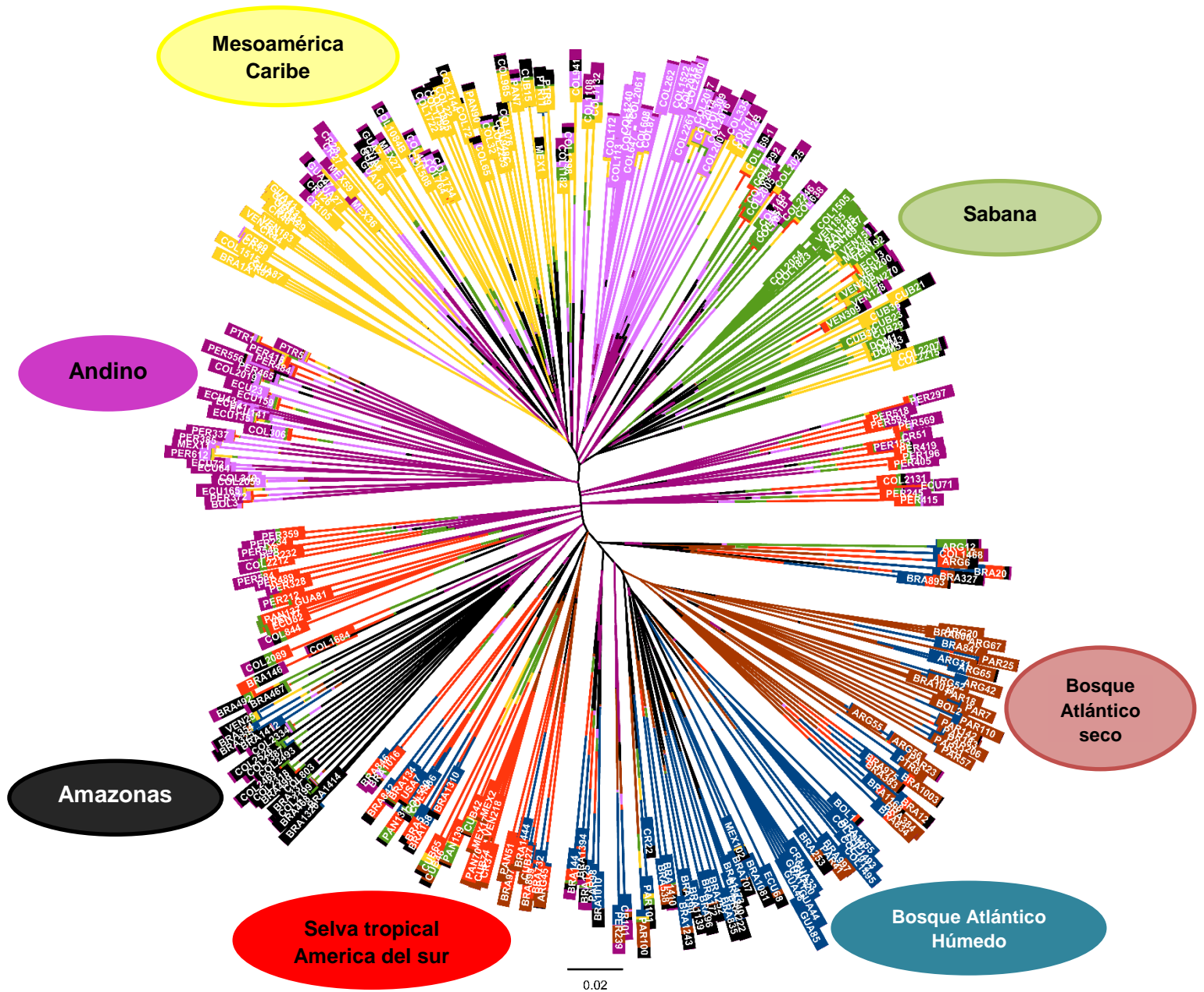


Figura 0-8: Centros de diversidad del género *Manihot*. Árbol filogenético. (Becerra Lopez-Lavalle *et al.*, 2015).



Figura 0-9: Localización de los genotipos en los centros de diversidad de yuca. (Becerra Lopez-Lavalle *et al.*, 2015).

2.8. Estudio de asociación del genoma completo (Genome-wide association study, GWAS)

El estudio de asociación del genoma completo GWAS es una técnica que permite investigar numerosas regiones del genoma y detectar un número considerable de marcadores genéticos tipo SNPs y por medio de estos se han identificado asociaciones estadísticamente significativas entre cientos de genes y caracteres de interés (Wu *et al.*, 2015). Otra definición para el GWAS corresponde a un análisis para la determinación de variación genética en el genoma de un organismo vivo con el propósito de identificar su relación con una característica deseable. Los GWAS suelen centrarse en asociaciones entre los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) y características deseables. (Kabesch, M. 2010).

Un estudio de asociación del genoma es un enfoque que involucra marcadores moleculares a través genomas completos, para encontrar variaciones genéticas asociadas con un rasgo en particular. Para ello se deben estudiar una gran cantidad de individuos, de modo que se puedan comparar datos genéticos entre ellos. De este modo, al comparar los datos genéticos obtenidos de las secuenciaciones de los genomas de diferentes individuos, podemos hallar genes ligados a caracteres (Pantalião *et al.*, 2016). Por ejemplo, podemos contrastar cómo quizá se produce la aparición de uno o varios SNPs (variación de un sólo par de bases) o una delección, repetición, etc. en una secuencia del genoma siempre que aparece el mismo fenotipo, pudiendo así concluir que este cambio a nivel genético se corresponde con un rasgo. (National Human Genome Research Institute – NIH, 2015). GWAS es, por lo tanto, una forma eficiente de descubrir la arquitectura genética de rasgos complejos y una herramienta poderosa para el cultivo (Rebolledo *et al.*, 2016)

En la bibliografía ya se reportan estudios de la utilización de GWAS para el mejoramiento de parametros de calidad poscosecha en plantas, por ejemplo se utilizó una aplicación práctica de GWAS para diseccionar la base genética de rasgos nutricionales en yuca como el contenido de carotenos en raíces (Esuma *et al.*, 2016). También, estudios de GWAS se llevaron a cabo para mapear loci de rasgos cuantitativos (QTL) asociados con los contenidos de zinc y hierro en cebada (Gyawali *et al.*, 2017). Bonnafous *et al.*, 2017 utilizaron GWAS para identificar regiones genómicas asociadas con el tiempo de floración en híbridos de girasol. Utilizaron un panel de 452 híbridos de girasol, que corresponde al cruce incompleto entre 36 líneas masculinas y 36 líneas femeninas, se fenotipó en cinco entornos y se genotipó para 2.204.423 SNP. Se identificaron trece loci de rasgos cuantitativos en total. Se realizó un estudio de GWAS en donde se caracterizaron 166 cultivares de trigo en China para identificar regiones en el genoma relacionados con variaciones en el tamaño de gránulos de almidón (Li *et al.*, 2014).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Achidi, A.U., Ajayi, O.A., Bokanga, M., Maziya-Dixon, B., (2005). The use of cassava leaves as food from Africa. *Ecology of Food and Nutrition*. Voluemen 44. pp. 423-435.

Aguilera, M. (2012). La yuca en el Caribe colombiano: De cultivo ancestral a agroindustrial. Centro de estudios económicos regionales (CEER) del Banco de la Republica de Colombia. Número 158,

63 p. ISSB 1692-3715. Disponible:

<http://www.banrep.gov.co/documentos/publicaciones/regional/documentos/DTSER-158.pdf>

Alarcón, F., y Dufour, D., (1998). Almidón agrío de yuca en Colombia, tomo 1: producción y recomendaciones. Publicación CIAT n° 268. ISBN 958-9439-67-5. 35 p.

Araujo, O., (2008). Factores anti-nutricionales en los alimentos para el ganado vacuno. Desarrollo sostenible de la ganadería de Doble propósito. Capítulo XXXIV. 411-421 p. Disponible on-line: http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_34.pdf

Arboledas, D., (2011). Jerarquía estructural de las proteínas. Editorial Club Universitario. 186 paginas.

Aristizábal, J., y Sanchez, T. (2007) 'ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca'.

Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA, Selker EU, Cresko WA, Johnson EA (2008) Rápido descubrimiento de SNP y mapeo genético usando marcadores RAD secuenciados. PLoS One 3: e3376

Banco de la República de Colombia. María Aguilera Díaz. Mayo de 2012. Disponible On-line: http://www.banrep.gov.co/documentos/presentaciones-discursos/Funcionarios/2012/aguilera_may_2012.pdf

Bayoumi, S. A. L. et al. (2008) 'Biosynthesis of scopoletin and scopolin in cassava roots during post-harvest physiological deterioration: The E-Z-isomerisation stage', *Phytochemistry*. Elsevier Ltd, 69(17), pp. 2928–2936. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.09.023.

Becerra Lopez-Lavalle, L.A., Perea, C.S., Duitama, J., Ruiz, M., Parsa, S., Ovalle, T., Alzate, A., Hershey C., Dufour, D., Aranzales, E., Debouck, D., y Tohme, J (2015). Cassava Digital Gene Bank. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de Yuca; Cali, CO.

Bonnafous, F., Fievet, G., Blanchet, N., S, M. B., Nicolas, M., Patrick, P., ... Brigitte, L. (2017). Comparison of GWAS models to identify non-additive genetic control of flowering time in sunflower hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-3003-4>

Bradbury, J.H., y Denton, A.C., (2011). Mild methods of processing cassava leaves to remove cyanogens and conserve key nutrients. *Food Chemistry*, Volume 127. pp. 1755–1759.

Bradbury, J.H., y Denton, A.C., (2014). Mild method for removal of cyanogens from cassava leaves with retention of vitamins and protein. *Food Chemistry*. Volume 158, páginas 417-420.

Cardoso, A.P., Mirione, E., Massaza, F., Cliff, J., Haque, M.R., (2005). Processing of cassava roots to remove cyanogens. *Journal of Food Composition Analysis*, vol 18. pp. 451–460.

Ceballos, H., De La Cruz, G. A. (2002). Taxonomía y Morfología de la Yuca. En: *La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. ISBN 958-694-043-8. p. 16-32.

Ceballos, H. et al. (2012) 'Spatial distribution of dry matter in yellow fleshed cassava roots and its influence on carotenoid retention upon boiling', *Food Research International*. Elsevier Ltd, 45(1), pp. 52–59. doi: 10.1016/j.foodres.2011.10.001.

Chávez, Y. A. and Martínez, B. (2010) 'Estudios de asociación mediante rastreo genómico y su contribución en la genética del asma', *Salud Uninorte*, 26(2), pp. 269–284.

Cock, James H.(1983). Aspectos fisiológicos del crecimiento y desarrollo de la planta de yuca . In: Domínguez M., Carlos E. (comp.). Yuca: Investigación, producción y utilización. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de Yuca; Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Cali, CO. p. 51-74. SB 211 .C3 Y85

Codex Alimentarius, International Food Standards. Norma del Codex para la harina de yuca comestible. CODEX STAN 176-1989

Codex Alimentarius, International Food Standards. Anteproyecto de niveles máximos para el ácido cianhídrico en la yuca y productos de yuca. CX/CF 13/7/10. Moscú, Federación Rusa. 2013. Disponible on – line: ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf7/cf07_10s.pdf

Latif, S. and Müller, J. (2015) 'Potential of cassava leaves in human nutrition: A review', Trends in Food Science and Technology, 44(2), pp. 147–158. doi: 10.1016/j.tifs.2015.04.006.

Domínguez, O., Carlos E.; Ceballos L., Luis Fernando; Fuentes de Piedrahita, Cilia L. 1983. Morfología de la planta de yuca. In: Domínguez M., Carlos E. (comp.). Yuca: Investigación, producción y utilización. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de Yuca; Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), Cali, CO. p. 29-49

Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Polonia JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE (2011) A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. PLoS ONE 6(5): e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>

Estadísticas De Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura (FAOSTAT) (2014). Production of cassava. Disponible en línea : <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

Esuma, W. et al. (2016) 'Genome-wide association mapping of provitamin A carotenoid content in cassava', Euphytica. Springer Netherlands, 212(1), pp. 97–110. doi: 10.1007/s10681-016-1772-5.

Favaro, S. P., Beleia, A., Junior, N., & Waldron, K. W. (2008). The roles of cell Wall polymers and intracellular components in the thermal softening of cassava roots. Food Chemistry, 108(1), 220–227.

Fennema, Owen. (2000). Química de los alimentos. Editorial Acribia. 2ª Edición. 1258 paginas.

Franck, H. et al. (2011) 'Effects of cultivar and harvesting conditions (age, season) on the texture and taste of boiled cassava roots', Food Chemistry, 126(1), pp. 127–133. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.10.088.

Guzman, A., Hernández, E., Ortega, E., Romero, R., y Silencio, J., (2009). Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. Revista mexicana de pediatría. Vol 76.Numero 3. 136-145 p.

Gyawali, S., Otte, M. L., Chao, S., Jilal, A., Jacob, D. L., Amezrou, R., & Verma, R. P. S. (2017). Genome wide association studies (GWAS) of element contents in grain with a special focus on zinc and iron in a world collection of barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Cereal Science, 77, 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.019>

He J, Zhao X, Laroche A, Lu ZX, Liu H, Li Z (2014) Genotipado por secuenciación (GBS), una herramienta definitiva de selección asistida por marcadores (MAS) para acelerar la reproducción de plantas. Front Plant Sci 5: 484

Herrera, S., y Shank, T.M. (2016). RAD secuenciación permite una resolución filogenética sin precedentes y la delimitación objetiva de especies en taxones divergentes recalcitrantes. Mol. Phylogenet. Evol. , 100 , pp. 70 – 79

- Hershey, C. H. (1993) 'Cassava', Genetic Improvement of Vegetable Crops, pp. 669–691. doi: 10.1016/B978-0-08-040826-2.50050-3.
- Hillocks, R.J., Tresh, J.M., Bellotti, A.C., (2002). Cassava: Biology, Production and Utilization. CABI Publishing Oxon, UK and New York, USA, pp. 1–16.
- Kabesch, M. (2010). Novel asthma-associated genes from genome-wide association studies: what is their significance? *Chest* 137(4), pp 909-915.
- Kennedy, G., Nantel, G., y Shetty. P., (2003). The scourge of “hid-den hunger”: Global dimensions of micronutrient deficiencies. *Food Nutr. Agric.* 32:8-16.
- Karp. A., y Edwards. K.J., (1997). DNA markers a global overview. In: Cateno –Anolles, G.;Gresshof, P.M.(Eds). DNA markers: protocols, applicatios and overviews. Wiley-VCH. New York. p1-13.
- Lancaster, P. A., y (Latif and Müller, 2015)Brooks, J. E., (1983). Cassava leaves as human food. *Economic Botany*. Volume 37, Issue 3, pp 331-348.
- Latif, S. and Müller, J. (2015) 'Potential of cassava leaves in human nutrition: A review', *Trends in Food Science and Technology*, 44(2), pp. 147–158. doi: 10.1016/j.tifs.2015.04.006.
- Leaché, A.D., Chavez, A.S., Jones, L.N., Grummer, J.A., Gottscho, A.D., y Linkem C.W. (2015). Phylogenomics of phrynosomatid lizards: conflicting signals from sequence capture versus restriction site associated DNA sequencing. *Genome Biol. Evol.*, 7, pp. 706-719
- Li M, Liu X, Bradbury P et al (2014) Enriquecimiento del poder estadístico para los estudios de asociación de todo el genoma. *BMC Biol* 12:73
- Li, J. et al. (2014) 'Studying the effects of whole-wheat flour on the rheological properties and the quality attributes of whole-wheat saltine cracker using SRC, alveograph, rheometer, and NMR technique', *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 55(1), pp. 43–50. doi: 10.1016/j.lwt.2013.07.022.
- Montalvo, A., y Gunz, T., (1895). La Yuca o mandioca. IICA, Costa Rica. Volumen 38 de OEA Instituto Interamericano de Cooperación Para la Agricultura Serie de Libros Y Materiales Educativos. 386 páginas. ISBN 9290390530.
- Morante, N. et al. (2010) 'Tolerance to postharvest physiological deterioration in cassava roots', *Crop Science*, 50(4), pp. 1333–1338. doi: 10.2135/cropsci2009.11.0666.
- National Human Genome Research Institute (NIH) (2015). Genome-Wide Association Studies. Disponible On –line: <https://www.genome.gov/20019523#gwas-6>
- Ngeve, J. M. (2003). Cassava root yields and culinary qualities as affected by harvest age and test environment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(4),249–257.
- Ngudi, D. D., Kuo, Y. H. and Lambein, F. (2003) 'Cassava cyanogens and free amino acids in raw and cooked leaves', *Food and Chemical Toxicology*, 41(8), pp. 1193–1197. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00111-X.
- Nhassico, D., Muquingue, H., Acantilado, J., Cumbana, A., y Bradbury, J.H., (2008). Rising African cassava production, diseases due to high cyanide intake and control measures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol 88. pp. 2043–2049.
- Northrop Clewes, C.A., y Thurnham, D.I., (2002). Vitamins. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 34-96 p.

Oliveira EJ, Resende MDV, Silva Santos V et al. (2012) Selección genómica en yuca. *Euphytica* 187: 263-276

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO). Informe sobre El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Rome, Italy, 2012. Disponible On-line: <http://www.fao.org/news/story/es/item/161867/icode/>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO). Cassava. FAO: Rome, Italy, 2008. Disponible on-line: <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/gcids/>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO). El mercado de almidón añade valor a la yuca. FAO: Rome, Italy, 2006. Disponible on-line: <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0610sp1.htm>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO). Nutrición humana en el mundo en desarrollo por Michael C. Latham. Colección FAO: Alimentación y nutrición N°2. Rome, Italy, 2002. Disponible on-line: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s00.htm#Contents>.

Ospina Patiño, Bernardo; Ceballos, Hernán; Alvarez, Elizabeth; Bellotti, Anthony C.; Calvert, Lee A.; Arias V., Bernardo; Cadavid López, Luis Fernando; Pineda López, Benjamín; Llano R., Germán Alberto; Cuervo Ibáñez, Maritza (eds.). 2002. La yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Consorcio Latinoamericano para la Investigación y el Desarrollo de la Yuca; Proyecto IP-3 de Mejoramiento de Yuca, Cali, CO. 586 p. (Publicación CIAT no. 327). Disponible On-line:

http://books.google.com.co/books?id=l18Dz9sYZO8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Owens BF, Lipka AE, Magallanes-Lundback M et al. (2014) Una base para la provitamina A de biofortificación de maíz: asociación genómica y modelos de predicción genómica de los niveles de HCN. *Genetics* 198: 1699-1716

Padonou, W., Mestres, C. and Nago, M. C. (2005) 'The quality of boiled cassava roots: Instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties', *Food Chemistry*, 89(2), pp. 261–270. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.033.

Pantalião, G. F., Narciso, M., Guimarães, C., Castro, A., Colombari, J. M., Breseghello, F., ... Brondani, C. (2016). Genome wide association study (GWAS) for grain yield in rice cultivated under water deficit. *Genetica*, 144(6), 651–664. <https://doi.org/10.1007/s10709-016-9932-z>

Prochnik S, Marri PR, Desany B et al (2012) El genoma de la yuca: progreso actual, direcciones futuras. *Trop Plant Biol* 5: 88-94

Rab IY, Hamblin MT, Kumar PL, Gedil MA, Ikpan AS, Jannink JL, Kulakow PA (2014) Cartografía de alta resolución de la resistencia a los geminivirus de mosaico de la yuca en la yuca utilizando el genotipado por secuenciación y sus implicaciones para la cría. *Virus Res* 186: 87-96

Ravindran, G., y Ravindran, V. (1998). Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. *Food Chemistry*. Volume 27, Issue 4, 1988, Pg 299–309.

Rebolledo, M. C., Peña, A. L., Duitama, J., Cruz, D. F., Dingkuhn, M., Grenier, C., & Tohme, J. (2016). Combining Image Analysis, Genome Wide Association Studies and Different Field Trials to Reveal Stable Genetic Regions Related to Panicle Architecture and the Number of Spikelets per Panicle in Rice. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1384. <http://doi.org/10.3389/fpls.2016.01384>

Reilly, K., Gomez-Vasquez, R., Buschmann, H., Tohme, J., Beeching, J.R., (2004). Oxidative stress responses during cassava post-harvest physiological deterioration. *Plant Mol. Biol.* 56, 625–641.

Sachidanandam, R., Weissman, D., Schmidt, S.C., Kakol, J.M., Stein, L.D., Marth, G., Sherry, S., Mullikin, J.C., Mortimore, B.J., Willey, D.L., Hunt, S.E., Cole, C.G., Coggill, P.C., Rice, C.M., Ning, Z., Rogers, J., Bentley, D.R., Kwok, P.Y., Mardis, E.R., Yeh, R.T., Schultz, B., Cook, L., Davenport, R., Dante, M., Fulton, L., Hillier, L., Waterston, R.H., McPherson, J.D., Gilman, B., Schaffner, S., Van Etten, W.J., Reich, D., Higgins, J., Daly, M.J., Blumenstiel, B., Baldwin, J., StangeThomann, N., Zody, M.C., Linton, L., Lander, E.S. y Altshuler, D.; International SNP Map Working Group. 2001. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409: 928–933.

Sánchez, T. et al. (2010) 'Comparison of pasting and gel stabilities of waxy and normal starches from potato, maize, and rice with those of a novel waxy cassava starch under thermal, chemical, and mechanical stress', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), pp. 5093–5099. doi: 10.1021/jf1001606.

Sanchez, T., Ortiz, D., Ceballos, H., Dufour, D., Davrieux, F., Morante, N., Calle, F., Zum felde, T., Becerra-L, L. A., Chavarriaga, P., Hershey, C. (2012). Utilization of NIRS and chromameter in selection for increased carotenoids content in cassava roots. Poster session in: Global Cassava Partnership second scientific Conference GCP21-II. Cassava: overcoming challenges of global climatic change. National Crops Resources Research Institute, Namulonge, Uganda, June 18-22.

Sánchez, T. et al. (2013) 'Changes in extended shelf life of cassava roots during storage in ambient conditions', *Postharvest Biology and Technology*. Elsevier B.V., 86, pp. 520–528. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.07.014.

Siqueira, E. M. de A. et al. (2007) 'β-Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats', *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(1–2 SPEC. ISS.), pp. 235–240. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.12.006.

Suwarno WB, Pixley KV, Palacios-Rojas N, Kaeppler SM, Babu R (2015) El análisis de asociaciones genómicas revela nuevos objetivos para la biofortificación de HCN en el maíz. *Theor Appl Genet* 128: 851-864

Uarrotta, V. G., Da Costa, N. E., Martins, P. L. A., De Oliveira, N. E., Coelho, B., Moresco, R., Garcia, D. M., Sánchez, T., Luna, M. J. L., Dufour, D., Ceballos, H., Becerra Lopez-Lavalle, L. A., Hershey, C., Rocha, M., Maraschin, M. (2015). Toward better understanding of postharvest deterioration: biochemical changes in stored cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots: *Food Science & Nutrition*. doi: 10.1002/fsn3.303. 1-14.

Wu, X., Sun, C., Yang, L., Zeng, G., Liu, Z., & Li, Y. (2008). β-carotene content in sweet potato varieties from China and the effect of preparation on β-carotene retention in the Yanshu No. 5. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.06.002>

Yeoh, H.H., y Chew, M.Y., (1976). Protein content and amino acid composition of cassava leaf. *Phytochemistry*. Volume 15, Issue 11, Pages 1597–1599.

Zainuddin, I. M., Fathoni, A., Sudarmonowati, E., Beeching, J. R., Gruitsem, W., & Vanderschuren, H. (2017). Cassava post-harvest physiological deterioration: From triggers to symptoms. *Postharvest Biology and Technology*, (September), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.09.004>

Capítulo 1

Caracterización por propiedades nutricionales y de calidad comercial en raíces de yuca pertenecientes a siete centros de diversidad

Resumen

Las raíces de yuca se consideran de gran importancia para la seguridad alimentaria debido a que son uno de los alimentos de mayor fuente de energía en la dieta alimentaria. Este estudio busca caracterizar genotipos de yuca *Manihot esculenta* Crantz para contribuir a la comprensión de la diversidad fenotípica de la yuca, mediante la determinación de las propiedades nutricionales y de calidad comercial de 236 genotipos de yuca pertenecientes a siete diferentes centros de diversidad. Como resultado se encontró 10 genotipos con alto contenido de materia seca, tolerancia a deterioro fisiológico pos cosecha, bajo contenido de compuestos cianógenos y buena calidad culinaria, parámetros que cumplen con los criterios de preferencias de los consumidores y las exigencias del mercado. La caracterización de los siete centros de diversidad permitió obtener una importante información fenotípica de la diversidad genética útil para ser aprovechada en el mejoramiento de genotipos de yuca que se adapten a los nuevos requerimientos de productividad futura, nutrición y el medio ambiente.

Palabras claves: Mejoramiento, Materia seca, Cianuro, Deterioro fisiológico, Cocción.

Abreviaciones

MS: Contenido de materia seca; HCN: Cianuro; DFP: Deterioro Fisiológico pos cosecha

Bs: Base de peso seco

1. Introducción

El género *Manihot*, familia Euphorbiaceae se compone de 98 especies distribuidas desde Arizona a la Argentina y en las Indias Occidentales (Rogers y Appan, 1973). La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) se considera originaria de América tropical, y el nordeste del Brasil como el más probable centro de origen. El área de domesticación del cultivo comprende desde México hasta Brasil y fue realizada en el periodo comprendido entre 12000 a 7000 años atrás (Simmonds, 1976; Domínguez et al.1983). Originaria de las poblaciones silvestres *M.esculenta subsp. flabellifolia* que crecían como arbusto y subarbustos, en la sabana de la meseta del escudo brasileño, en la selva baja de la cuenca del Amazonas y en zonas de boscosas (Olsen y Schaal, 1999). La principal colección mundial del género *Manihot* se encuentra en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) en Colombia con 6643 accesiones.

La yuca ha evolucionado como una especie cultivada por selección natural reproducida de forma clonal y también sexualmente, para obtener recombinación genética. Tiene un mercado global significativo, que abarca desde la alimentación humana y animal hasta la producción de harinas y almidones, por esto se constituye como el segundo cultivo más importante en los países menos desarrollados, y el cuarto cultivo más importante para los países en desarrollo (RTB, 2012). La yuca se considera de gran contribución para la seguridad alimentaria porque es una de las mayores fuentes de energía alimentaria en la dieta mundial. Este cultivo es capaz de soportar la sequía y crecer en suelos deficientes en nutrientes, por lo tanto, es consumida donde la pobreza y la desnutrición son significativas. La producción mundial de yuca en 2014 fue de 268.277.743 toneladas. Los principales países productores de yuca fueron: Nigeria (38.982.302 toneladas), Brasil (23.381.815 toneladas) y Tailandia (21.621.983 toneladas) (FAOSTAT, 2017). Existen varios factores que afectan la calidad de yuca para satisfacer las nuevas y crecientes demandas en el mercado. La yuca se cultiva generalmente en ambientes alejados de las zonas de procesamiento y comercialización. Algunos genotipos tienen una vida útil muy corta a causa de su susceptibilidad al deterioro fisiológico poscosecha (DFP), lo que convierte a las raíces en no comercializables (Wheatley and Gómez, 1985; Ceballos *et al.*, 2012). La calidad sensorial de las raíces de yuca es un factor importante para la aceptación de nuevos cultivares mejorados. La yuca cocinada es la forma más común de consumo donde

los principales atributos su sabor y su textura. En la textura, la friabilidad es el atributo más importante (Beléia *et al.*, 2004; Padonou, Mestres and Nago, 2005; Franck *et al.*, 2011) En cuanto al sabor, una característica limitante para el consumo es el contenido de glucósidos cianógenicos. Sin embargo, la mayor parte del HCN se elimina por los métodos tradicionales de procesamiento de rallado, fermentación, ebullición y secado (Nhassico *et al.*, 2008).

Los esfuerzos de la mayoría de programas de mejoramiento se han centrado en la mejora de las características agronómicas de la planta. Este estudio investiga los parámetros de calidad poscosecha con la intención de identificar nuevas fuentes de genes a partir de cultivares de yuca que en sus raíces tengan alto contenido de materia seca, bajo contenido de compuestos cianógenicos, tolerancia al deterioro fisiológico poscosecha y excelente palatabilidad.

El objetivo de esta investigación es contribuir a la comprensión de la diversidad genotípica y fenotípica de la yuca, mediante la determinación de las propiedades nutricionales y de calidad comercial de 236 genotipos de yuca pertenecientes a siete centros de diversidad (Amazonas, Zona Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico seco y húmedo). Esta caracterización permitirá desbloquear una importante fuente de diversidad genética para mejorar las variedades que se adapten a la productividad futura, la nutrición y el medio ambiente.

1.2. Materiales y Métodos

1.2.1. Materiales

Las plantas utilizadas en este estudio fueron sembradas en el Centro Internacional de Agricultura Tropical localizado a 1100 m.s.n.m en Palmira, Colombia (03° 25'N; 76° 35'W) y se cosecharon cuando tenían aproximadamente 11 meses de edad fisiológica durante tres ciclos de cosecha desde el año 2015 a 2017. Los 236 genotipos se agruparon en siete grupos de diversidad para su estudio como se reportó en la tabla 1. La variación en el número de genotipos de diferentes países es representativa de la diversidad de germoplasma en la colección de yuca. Los análisis que se realizaron se basaron en la evaluación de 16 plantas por cada genotipo durante tres años de cosecha.

1.2.2. Determinación del contenido de materia seca

Se tomó una muestra de raíces frescas para la cuantificación del contenido de materia seca (%Ms). Para su estimación, se secó aproximadamente 5 g de tejido de raíz cortada y rallada en un horno a 105°C durante 24 h. La materia seca se expresó como el porcentaje de peso seco respecto al peso fresco.

$$\% \text{Materia Seca} = \frac{\text{Peso fresco de la muestra}}{\text{Peso seco de la muestra}} \times 100 \quad \text{Ec. 1.1}$$

1.2.3. Determinación de la susceptibilidad al deterioro fisiológico poscosecha (DFP)

La evaluación se realizó empleando el método descrito por Wheatley *et al.*, 1985, se emplearon 10 raíces por clon y se eliminaron los extremos distal y proximal a cada raíz, acelerando el proceso de deterioro. La sección distal se cubrió con una película plástica, evitando el flujo de oxígeno por ese extremo. Las raíces se almacenaron por 7 días. Para calcular el DFP, se cortaron 7 rodajas a lo largo de la raíz, iniciando en el extremo proximal, asignando a cada rodaja una puntuación que osciló de 1 a 10, correspondiente al porcentaje de coloración oscura observado en superficie del corte (1=10%, 2=20%, etc.). El porcentaje promedio de DFP de cada raíz, se obtuvo promediando las calificaciones de las siete secciones transversales. Se descartaron raíces que muestran síntomas de podredumbre microbiana (muy diferentes de las relacionadas con DFP) o afectados por insectos. Los resultados que fueron obtenidos son comparables con las condiciones de almacenamiento de las raíces de yuca en una fábrica de almidón.



Figura 1-1: Descripción visual de la evaluación de deterioro fisiológico poscosecha (Luna, 2016)



Figura 1-2: Escala de evaluación y clasificación visual de deterioro fisiológico poscosecha. (Luna, 2016)

Tabla 1-1: Resumen de los centros de diversidad evaluados y los genotipos que los conforman.

centros de diversidad	N° total de genotipos	País	N° genotipos	País	N° genotipos
Amazonas	17	Brasil	8	Venezuela	1
		Colombia	8		
Andino	44	Bolivia	1	México	1
		Colombia	7	Perú	20
		Costa Rica	1	Puerto Rico	1
		Ecuador	13		
Bosque Atlántico Seco	38	Argentina	2	Paraguay	20
		Bolivia	1	Perú	1
		Brasil	14		
Bosque Atlántico Húmedo	27	Brasil	20	México	1
		Colombia	3	Paraguay	1
		Guatemala	2		
Mesoamérica Caribe	34	Brasil	2	México	3
		Colombia	8	Panamá	3
		Costa Rica	6	Puerto Rico	1
		Ecuador	1	Venezuela	1
		Guatemala	9		
Sabana	29	Colombia	6	Guatemala	1
		Costa Rica	1	México	2
		Cuba	5	Panamá	1
		Rep. Dominicana	1	Perú	1
		Ecuador	2	Venezuela	9
Selva tropical de América del sur	47	Brasil	21	Panamá	2
		Colombia	5	Paraguay	1
		Costa Rica	2	Perú	4
		Cuba	5	Puerto Rico	1
		Ecuador	1	USA	2
		Guatemala	1	Venezuela	2
Total de genotipos analizados	236				

1.2.4. Cuantificación del contenido de ácido cianhídrico (HCN)

La cuantificación de HCN total se realizó según metodología descrita por Essers *et al.*, (1993). Primero se homogenizó 40g de pulpa a temperatura ambiente con 50 ml de medio

de extracción, durante 3 min. Se tomó una alícuota del homogenizado y se centrifugó durante 10 minutos a 6000 rpm a 25°C. Se tomó 0.1 ml del extracto anterior y se agregó a tubos con 0.4 ml de solución tampón fosfato 0.1 M pH 7. Después, se agregó 0.1 ml de enzima linamarasa y se colocó a incubar a 30°C durante 15 min. Una vez terminada la reacción se agregó 0.6 ml de NaOH 0.2 M y se esperó 5 min a temperatura ambiente para después agregar 2.8 ml de solución tampón fosfato 0.1 M pH 6.0. En el análisis espectrofotométricamente se agregó 0.1 ml de cloramina T, y luego de 5 min, se adicionó 0.6 ml del reactivo Isonicotinato/1,3-dimetil barbiturato. Después de 10 min, se leyó la absorbancia a 605 nm.

Cálculos para determinar contenido de cianuro

$$\text{Contenido HCN (ppm)} = \frac{10 \times V_{\text{extracción}} \times A_{620} \times Fd}{A_{\text{equivalente}} \times P_{\text{seco}}} \quad \text{Ec.1.2}$$

$V_{\text{extracción}}$ = Volumen ajustado + (PF - ((MS*PF)/100))

A_{605} = Promedio de absorbancias de la muestra a 605 nm

Fd = Factor dilutor

PF = Peso Fresco de la muestra

MS = Porcentaje del contenido de materia seca de la muestra

A_{equiv} = Absorbancia equivalente de ug de HCN a 605 nm

PS = Peso seco de la muestra $(MS*PF)/100$

1.2.5. Análisis de tiempo óptimo de cocción y textura

Las raíces de yuca de cada genotipo fueron lavadas y peladas. Después, se cortó una rodaja central de aproximadamente 6 cm de longitud que se dividió de forma transversal. Estos trozos se hirvieron en agua destilada a 96,5 °C (1.100 m sobre el nivel del mar en Cali, Colombia) hasta que se determinó su tiempo óptimo de cocción con una prueba de punción. Inmediatamente después de la cocción, los trozos se retiraron del baño de agua para evitar el enfriamiento y la retrogradación del almidón, y se transfirieron inmediatamente a una plataforma analizador de textura TAXT2 (Stable Micro Systems, Ltd, Surrey, Reino Unido). Se utilizó la herramienta de cuchilla. Se midió la firmeza (g) en las rodajas crudas y cocinadas, con tres cortes de 7 mm de perforación por cada rodaja, pre-velocidad 2 mm/s, velocidad de corte de 1 mm/s, post-velocidad de 2 mm/s. Los análisis se realizaron sobre muestras por duplicado o más, dependiendo de la disponibilidad en

cada tiempo de cocción. Texture Expert Exceed software se utilizó para registrar la propiedad de textura en fuerza frente a la curva de desplazamiento: el pico de fuerza máxima como la firmeza (g), área bajo la curva como el trabajo de compresión (g mm), y la distancia lineal a medida que el perímetro de la fuerza frente a la curva de desplazamiento. Para la prueba de palatabilidad, el panel se conformó por 3 consumidores habituales de yuca cocinada. El gusto y la friabilidad fueron considerados por el panel como los atributos más importantes para describir la calidad de la yuca cocinada. Los evaluadores calificaron: el sabor como dulce, simple o amargo, la textura: como blanda, media o dura, reportaron la presencia de fibras y de friabilidad.

1.2.6. Análisis estadístico

Con los datos promedios obtenidos por parámetro evaluado de cada genotipo perteneciente a los siete zonas eco geográficas se realizaron: pruebas con rangos múltiples mediante test de Tukey, análisis de varianza y correlación de Pearson, análisis de componentes principales y se determinaron clústeres utilizando el software de análisis estadístico JMP versión 12.2 y paquete SAS (Versión 9,1) considerando que no hay diferencia significativa entre valores $P < 0,05$.

1.3. Resultados y Discusión

1.3.1. Caracterización de los genotipos de yuca evaluados

Los resultados de la caracterización de 236 genotipos de yuca evaluados de acuerdo a cuatro parámetros de calidad poscosecha se reportaron en la Fig.1-3, donde se visualizó la amplia diversidad mediante graficas de distribución. El contenido de materia seca osciló entre 22% al 43% con media de 38%. Según Ceballos y De la cruz, 2002 el criterio de calidad para la selección de raíces de yuca en el mercado en fresco en cuanto a materia seca debe tener un contenido mayor al 30%, en este estudio se obtuvieron 190 genotipos que tuvieron contenido de materia seca por encima del 35% (Fig.1-3a). Además, los genotipos COL1805, PAR57 y VEN270 presentaron el mayor contenido materia seca y los genotipos BOL2, COL2316 y MEX11 presentaron el contenido de materia seca mas bajo.

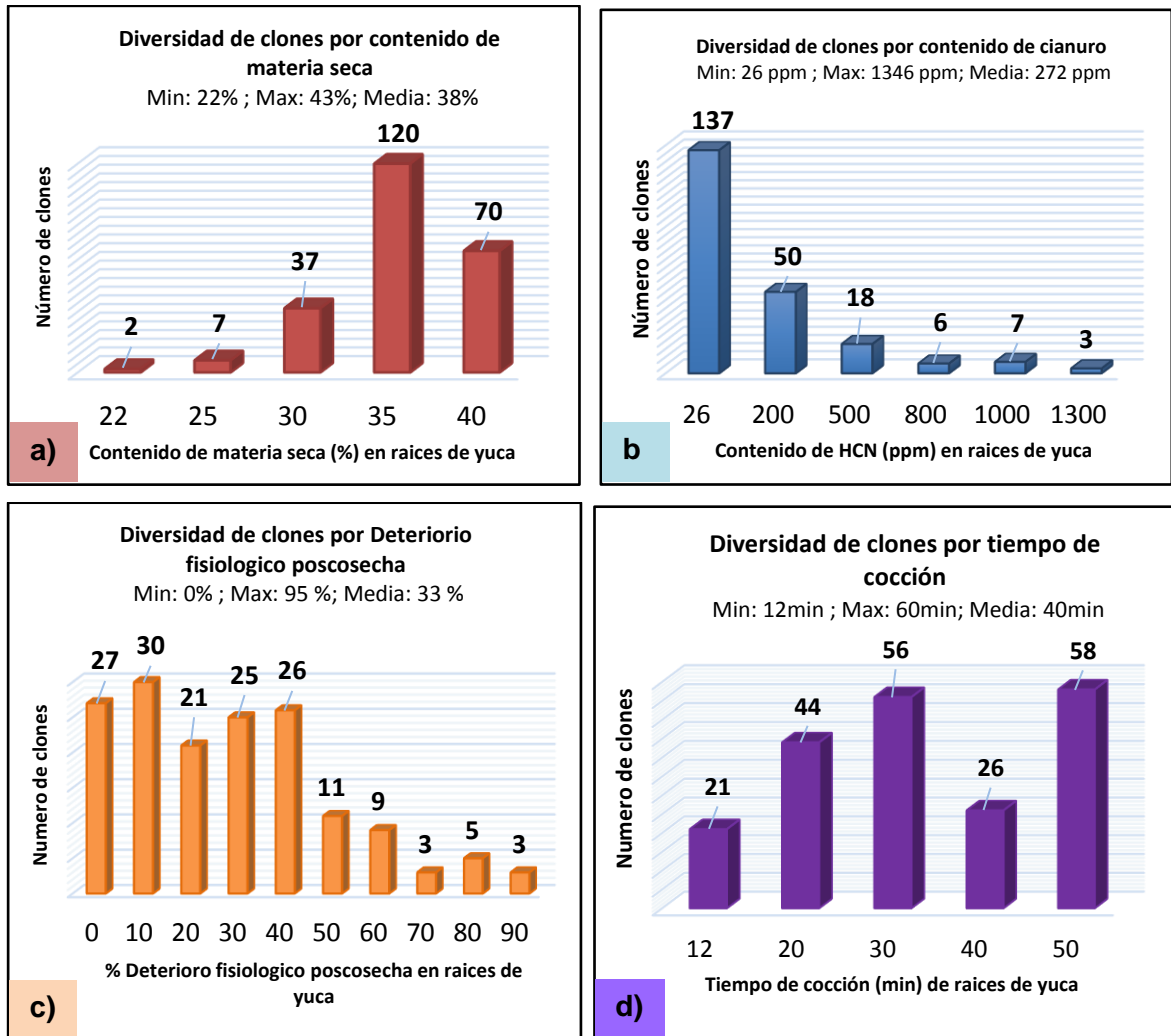


Figura 1-3: Gráficos de frecuencias de distribución (a) Materia Seca (%); (b) HCN (ppm); (c) Deterioro fisiológico poscosecha (%); (d) Tiempo de cocción (min).

Los compuestos cianógenos se distribuyen por el cultivar de la yuca, con mayor cantidad en las hojas y en la cáscara de las raíces, mientras que en el parénquima de la raíz se encuentra en cantidades más pequeñas (Cardoso *et al.*, 2005). De acuerdo con los reportado por Aristizábal y Sánchez, 2007, la buena calidad de las raíces de yuca para la industria alimentaria está asociada al bajo contenido de cianuro en la pulpa el cual no debe exceder a 60 ppm en base húmeda y 200 ppm en base seca ya que sería perjudicial. En la Fig. 1-3b se reportó la variabilidad del contenido de cianuro en raíces de yuca que osciló entre 26 ppm hasta 1346 ppm con un promedio de 272 ppm, con 137 genotipos yuca categorizados como dulces con un contenido por debajo 200 ppm de HCN. En donde se

destacaron los genotipos BRA492, VEN25 y COL2315 por tener mayor contenido de cianuro y los genotipos PER613, ECU71 y COL2019 presentaron el menor contenido de cianuro.

El deterioro fisiológico poscosecha (DFP) es uno de los factores responsable de la disminución de la vida útil de las raíces de yuca cosechadas ocasionando grandes pérdidas y limitando las oportunidades de comercialización (García *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2013). En la caracterización se encontró que el DFP osciló entre 0% al 95% con media de 33% (Fig. 1-3c). Según lo reportado por Luna, 2016 el criterio de selección de genotipos de yuca para DFP es hasta del 15%, se encontraron 27 genotipos que cumplieron este parámetro. Entre ellos se destacaron los genotipos PAR57, COL1493 y BRA893 sin embargo, los genotipos BRA897, VEN309 y MEX86 presentaron susceptibilidad al deterioro fisiológico poscosecha mayor al 90%.

En cuanto a los resultados obtenidos para el tiempo de cocción de raíces de yuca, éste osciló entre 12 min hasta 60 min, con media en 40 min, 21 genotipos de yuca fueron categorizados como de óptima calidad culinaria porque cocinaron en un tiempo inferior a 20 minutos (Fig. 1-3d), entre ellos se destacaron los genotipos BRA136, GUA32 y GUA58.

Tabla 1-2.: Selección de genotipos de yuca con óptimos parámetros de calidad poscosecha

Genotipos de yuca	MS (%)	HCN (ppm)	DFP (%)	Cocción (min)
COL2019	35	27	11	23
CR51	36	82	15	15
CUB65	41	84	14	25
ECU72	36	171	4	25
PAN51	40	119	6	21
PAR57	40	157	0	25
PAR98	38	193	4	19
PER183	35	126	9	20
PTR19	36	138	13	17
VEN270	41	153	14	25

De los 236 genotipos de yuca evaluados, se encontraron 10 genotipos que cumplieron con los criterios de preferencias de los consumidores y las exigencias del mercado (Tabla 1-2), estos genotipos presentaron un contenido de materia seca entre el 35% al 41%, un bajo contenido de cianuro menor a 200 ppm en base seca, hasta el 15% de susceptibilidad al deterioro fisiológico poscosecha y con buena calidad culinaria con tiempo de cocción

menor 25 minutos. Estos genotipos pueden ser seleccionados para empezar programas de mejoramiento con el fin de obtener cultivares de alta calidad poscosecha.

1.3.2. Análisis de varianza comparando los siete centros de diversidad

Se realizó los análisis de varianza para cada uno de los parámetros de calidad poscosecha, comparando los siete centros de diversidad. Los resultados se reportaron en las Fig. 1-3 a Fig.1-6, mediante una representación gráfica de rombos en donde la media está representada por la línea horizontal en la parte central de cada rombo y en el lado derecho se muestra la comparación de medias por test de Tukey-Kramer. En la Fig.1-4 se reportó que existen altamente diferencias significativas ($P < 0.0001^*$) entre los centros de diversidad para el %MS. Las zonas Sabana, Mesoamérica Caribe y Selva Tropical de América del sur presentaron los genotipos con mayor contenido de MS (Tabla 1-3). En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis de contenido de HCN, el centro de diversidad del Amazonas presentó los genotipos de yuca más amargos seguida de la zona Bosque Atlántico Húmedo, las 5 zonas restantes fueron consideradas de genotipos de yuca dulces aptos para el consumo humano (Tabla 1-4). La Fig. 1-5 indicó que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.0001^*$) entre las zonas evaluadas.

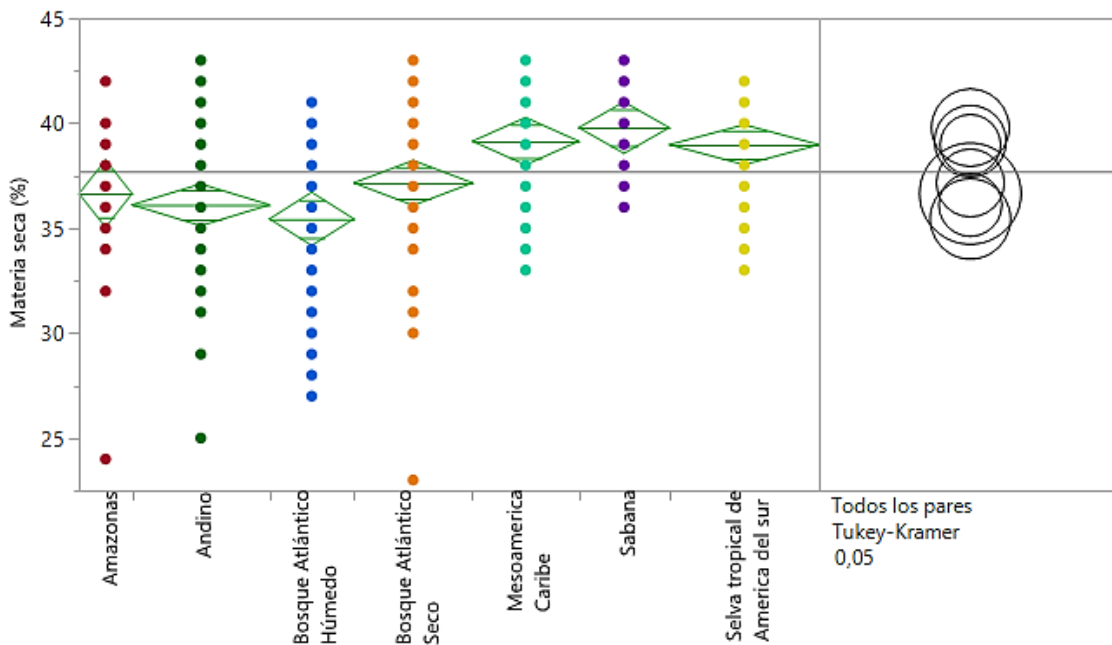
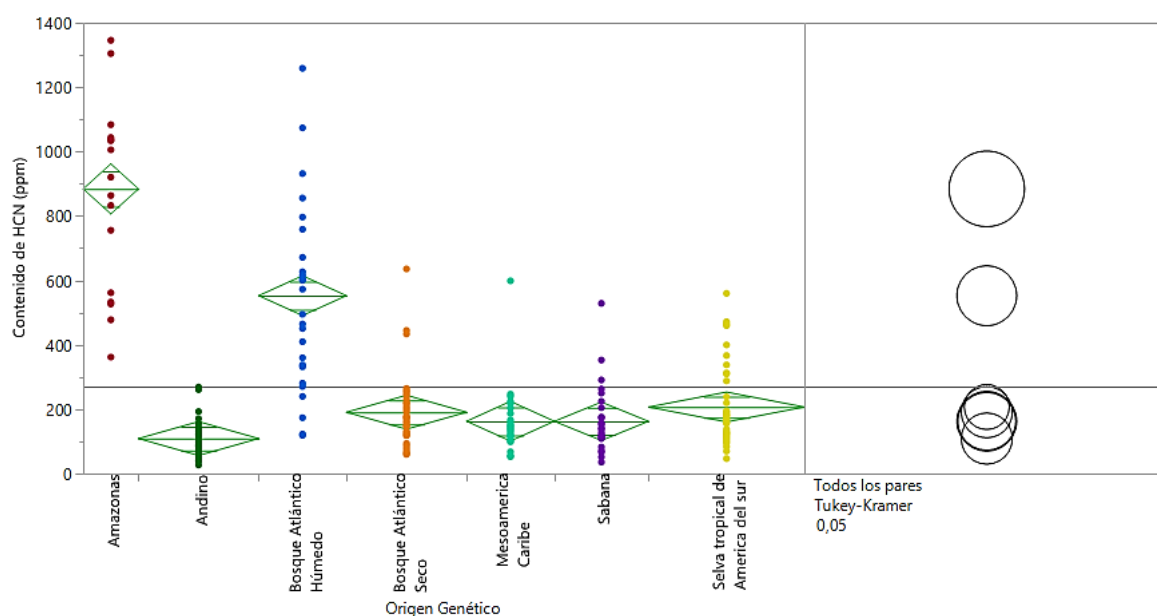


Figura 1-4: Análisis de varianza para el parámetro %MS por cada zona de diversidad

Tabla 1-3: Resultados comparación de medias para el parámetro MS por cada zona de diversidad

Centros de diversidad		Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Sabana	A	39,79	0,62	29
Mesoamérica Caribe	A B	39,15	0,57	34
Selva tropical de América del sur	A B	38,98	0,48	48
Bosque Atlántico Seco	B C	37,16	0,54	38
Amazonas	B C	36,65	0,81	17
Andino	C	36,11	0,50	44
Bosque Atlántico Húmedo	C	35,44	0,64	27

* Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

**Figura 1-5:** Análisis de varianza para el parámetro HCN por cada zona de diversidad**Tabla 1-4:** Resultados comparación de medias para el parámetro HCN por cada zona de diversidad

Zona de diversidad		Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Amazonas	A	884,52	39,46	17
Bosque Atlántico Húmedo	B	553,00	31,31	27
Selva tropical de América del sur	C	207,14	23,48	48
Bosque Atlántico Seco	C	190,92	26,75	37
Mesoamérica Caribe	C	163,00	31,31	27
Sabana	C	162,72	30,21	29
Andino	C	109,11	26,75	37

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

El centro de diversidad de Bosque Atlántico Húmedo presentó los genotipos de yuca con menor susceptibilidad a deterioro fisiológico poscosecha, estos genotipos son importantes para la industria y la comercialización de en supermercados porque resisten el transporte y el almacenamiento teniendo una vida útil más larga en comparación con la Zona de Sabana que presentó los genotipos con mayor susceptibilidad al DFP. La Fig.1-6 indicó que existen diferencias altamente significativas ($P=0.0044$) entre las zonas evaluadas para el parámetro susceptibilidad al DFP. Por otra parte, la zona de Amazonas presentó los genotipos de yuca con mayor tiempo de cocción con media 55 min en comparación con la Zona de Andino que presentó los genotipos con menor tiempo de cocción con media de 33 min. La Fig.1-7 indicó que existen diferencias altamente significativas ($P<0.0001^*$) entre las zonas evaluadas para el parámetro tiempo de cocción (Tabla 1-6).

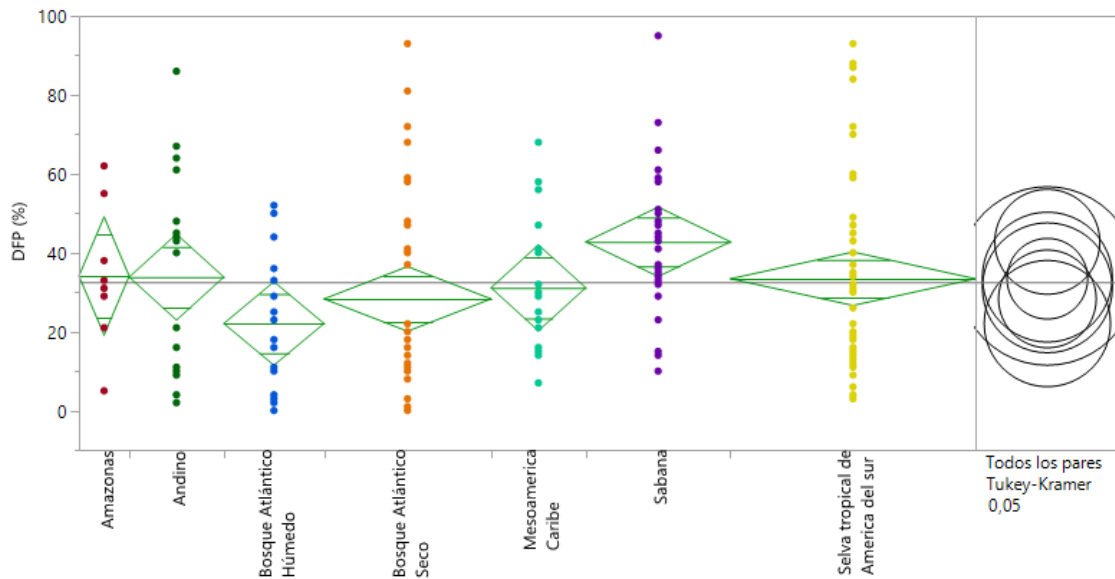


Figura 1-6: Análisis de varianza para el parámetro DFP por cada zona de diversidad

Tabla 1-5: Resultados comparación de medias para el parámetro DFP por cada zona de diversidad

Zona de diversidad		Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Sabana	A	42,77	4,46	26
Amazonas	A	34,11	7,58	9
Andino	A	33,82	5,51	17
Selva tropical de América del sur	A	33,41	3,43	44
Mesoamérica Caribe	A	31,12	5,51	17
Bosque Atlántico Seco	A	28,30	4,15	30
Bosque Atlántico Húmedo	B	22,05	5,36	18

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

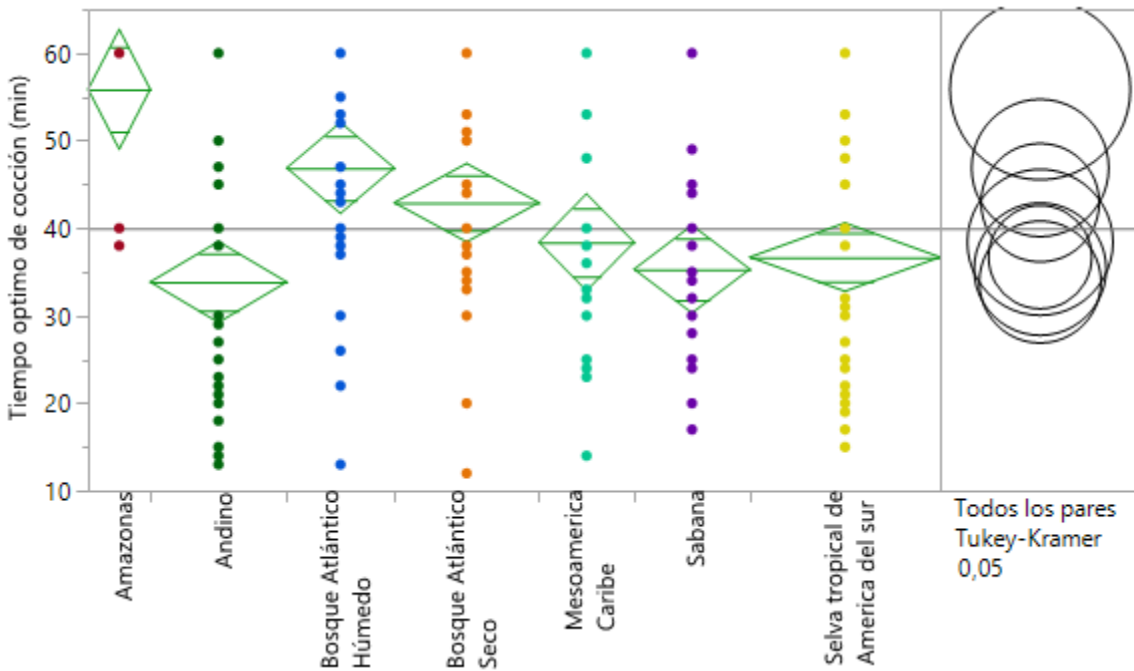


Figura 1-7. Análisis de varianza para Tiempo de cocción por cada zona de diversidad

Tabla 1-6: Resultados comparación de medias para Tiempo de cocción por cada zona de diversidad

Zona de diversidad		Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Amazonas	A	55,87	3,47	15
Bosque Atlántico Húmedo	A B	46,88	2,63	26
Bosque Atlántico Seco	B C	42,91	2,27	35
Mesoamérica Caribe	B C	38,39	2,80	23
Selva tropical de América del sur	C	36,69	1,98	46
Sabana	C	35,32	2,54	28
Andino	C	33,84	2,34	33

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

1.3.3. Análisis de correlación entre los parámetros de calidad poscosecha

El análisis de correlación de Pearson entre las variables estudiadas reportado en la tabla 1-7, reveló interacción entre MS con DFP, cuyos coeficientes de correlación de Pearson fueron 0.4376 con $p < 0.0001$, esta correlación es acorde a lo encontrado por Morante *et al.*, 2010 y Luna, 2016 quienes también encontraron correlación positiva entre estos dos

parámetros. Además, se obtuvo correlación negativa obtenida entre MS y HCN (-0.2766, $p < 0.0001$) y una correlación positiva entre Cocción y HCN (0,2901, $p < 0.0001$) que indica la existencia de una posible relación entre las raíces amargas tienen mayor tiempo de cocción.

Tabla 1-7: Resultados correlación de Pearson para los parámetros MS, HCN, DFP y Cocción

Correlación de Pearson	MS (%)	HCN (ppm)	DFP (%)	Cocción (min)
MS (%)	1,0000	-0,2766	0,4376	-0,1744
HCN (ppm)		1,0000	-0,1489	0,2901
DFP (%)			1,0000	-0,0613
Cocción (min)				1,0000

1.3.4. Análisis de componentes principales (ACP) entre los parámetros de calidad poscosecha

Se realizó un ACP para evaluar globalmente las variables más relevantes que describieran los parámetros de calidad poscosecha en los genotipos de yuca. Además, se utilizaron las variables capaces de discriminar entre los grupos de los centros de diversidad. Los dos primeros componentes representaron 42.8%, y 26.3% de la variación respectivamente (Fig. 1-8, tabla 1-8). El primer componente estaba altamente relacionado con MS, DFP y correlacionado negativamente con HCN, mientras que el segundo componente estaba altamente relacionado con el contenido de DFP y tiempo de cocción.

Tabla 1-8: Resultados análisis de componentes principales

	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
HCN (ppm)	-0,49369	0,41745	0,73749	0,19522
MS (%)	0,59444	0,30068	0,03047	0,74519
DFP (%)	0,50138	0,55925	0,18670	-0,63325
Cocción (min)	-0,38927	0,65005	-0,64832	0,07474

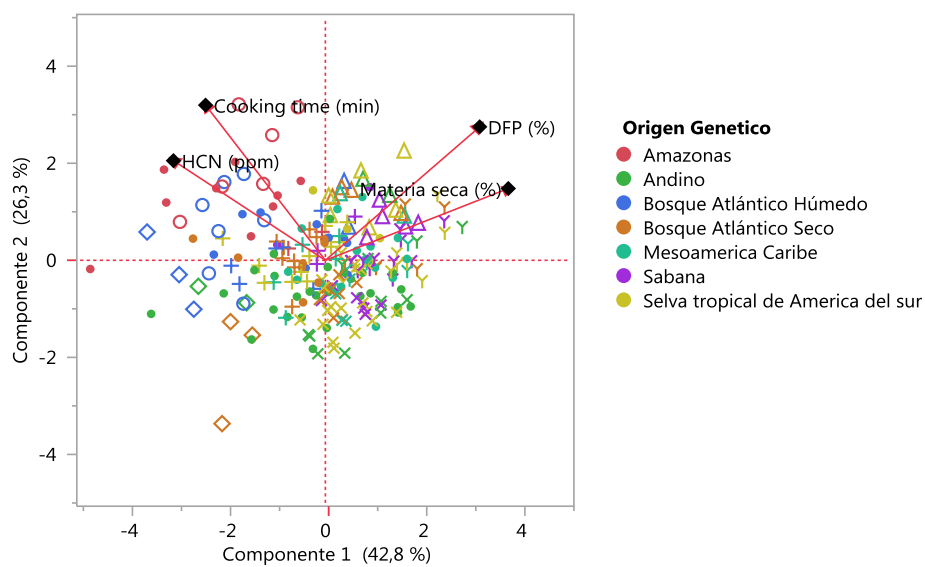


Figura 1-8: Resultados análisis de componentes principales

1.3.5. Análisis de clúster entre los parámetros de calidad poscosecha

Se realizó un análisis de clúster para encontrar agrupaciones dentro de los centros de diversidad evaluadas con el fin de obtener un conocimiento más profundo sobre los genotipos de yuca que existen en cada zona (Fig. 1-9). El clúster 1 presentó la asociación entre genotipos de la zona Amazonas y Bosque Atlántico Húmedo con características como alto en cianuro, bajo DFP y largo tiempo de cocción, el clúster 5 agrupó genotipos de Andinos, Selva tropical de América del Sur, Sabana con características de alta MS, bajo HCN, bajo DFP y corto tiempo de cocción.

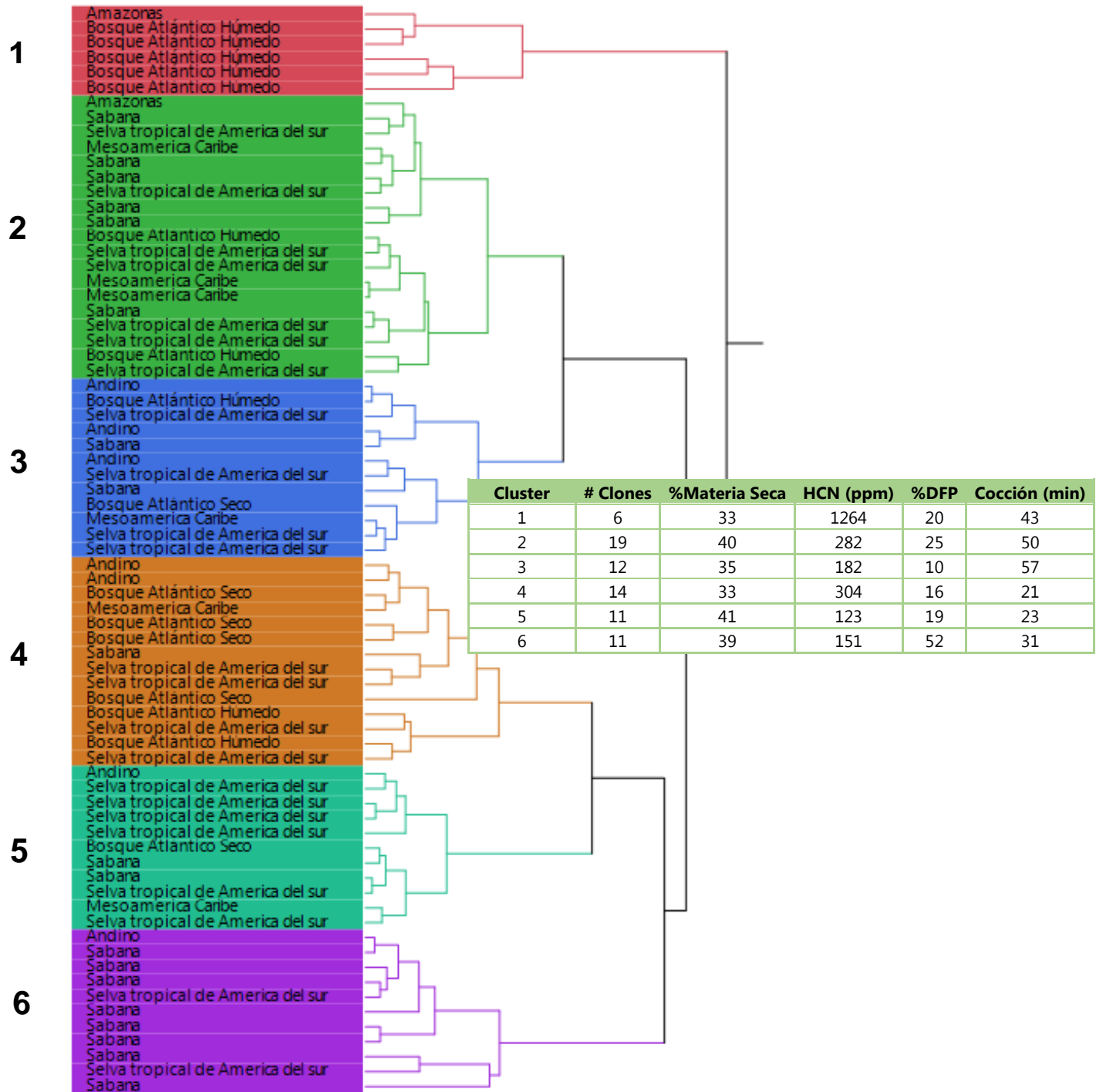


Figura 1-9: Clúster de los parámetros de calidad poscosecha

1.3.6. Relación entre tiempo de cocción y textura de las raíces de yuca cocinadas

Se determinó el tiempo de cocción de las raíces de yuca por prueba de punción y también se determinó la firmeza de cada trozo cocinado, los resultados de esta relación se reportaron en la Fig. 1-10 donde se encontró que 22 genotipos tuvieron un tiempo óptimo de cocción menor a 20 min y presentaron firmeza entre 500g a 2000g, 44 genotipos tuvieron un tiempo de cocción de 20 a 30 min y presentaron firmeza entre 2000g a 4000g, 70 genotipos tuvieron un tiempo de cocción de mayor a 40 minutos y presentaron firmeza de 5000 g en adelante. El parámetro firmeza y el tiempo de cocción tuvieron una positiva correlación de 0,824 ($p > 0,005$) altamente significativa.

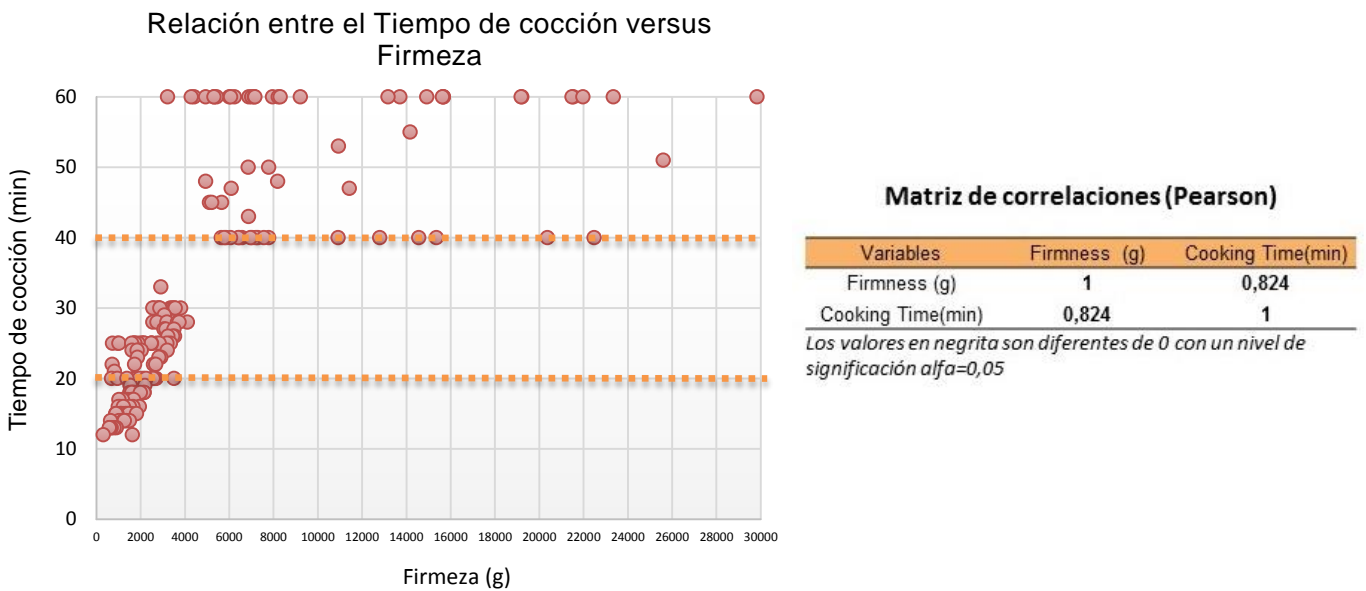


Figura 1-10: Relación entre tiempo de cocción y textura de las raíces de yuca cocinadas

1.4. Conclusiones

Los 236 genotipos fueron caracterizados por propiedades nutricionales y de calidad comercial, relacionados con las preferencias de los usuarios (procesadores y consumidores) que son cada vez más importantes para la adopción exitosa de variedades

mejoradas, y para identificar genotipos con alto potencial de reproducción y adopción por parte de los usuarios finales.

Cada centro de diversidad mostró características específicas. Los genotipos de Sabana, Mesoamerica Caribe y Selva tropical de America del Sur presentaron la mayor cantidad de materia seca (39% - 40% en peso húmedo). Los genotipos Andinos tuvieron el menor contenido de cianuro y el tiempo de cocción más corto (promedio de 109 ppm en base seca (bs) y 34 minutos, respectivamente). Por el contrario, los genotipos de Amazonas tuvieron el mayor contenido de cianuro y el tiempo de cocción más largo (promedio de 885 ppm bs. y 56 minutos, respectivamente). Estos rasgos pueden reflejar diferentes criterios de selección correspondientes a diferentes usos durante siglos de domesticación de la yuca: en la región andina, la yuca se consume comúnmente como raíces frescas hervidas y, por lo tanto, pueden haberse seleccionado preferentemente variedades con bajo contenido de cianuro y corto tiempo de cocción. Por otro lado, en la región amazónica, la yuca se fermenta para preparar farinha, para los cuales el tiempo de cocción y el cianuro son rasgos menos importantes, en la medida en que la fermentación suaviza las raíces elimina el cianuro. Los genotipos de Bosque Atlántico Húmedo y los genotipos de Sabana tuvieron el DFP más bajo y el más alto, respectivamente, 22% y 43%.

Referencias Bibliográficas

Aristizábal, J., y Sanchez, T. (2007). Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca.

Beléia, A. et al. (2004) «Sensory and instrumental texture analysis of cassava (manihot esculenta, crantz) roots», *Journal of Texture Studies*, 35, pp. 542-553. doi: 10.1111/j.1745-4603.2004.35505.x.

Cardoso, A. P. et al. (2005) «Processing of cassava roots to remove cyanogens», *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5), pp. 451-460. doi: 10.1016/j.jfca.2004.04.002.

Ceballos, H., y De la cruz, G. A. (2002). Taxonomía y Morfología de la Yuca. En: La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. ISBN 958-694-043-8. p. 16-32.

Ceballos, H. et al. (2012) «Spatial distribution of dry matter in yellow fleshed cassava roots and its influence on carotenoid retention upon boiling», *Food Research International*. Elsevier Ltd, 45(1), pp. 52-59. doi: 10.1016/j.foodres.2011.10.001.

Domínguez, O., Ceballos, L. F., Fuentes, C. (1983). Morfología de la planta de yuca. En: Yuca: Investigación, producción y utilización. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de Yuca; Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo (PNUD). Cali, p. 29-49.

Essers, S. A. J. A., Bosveld, M., van der Grift, R. M., & Voragen, A. G. J. (1993). Studies on the quantification of specific cyanogens in cassava products and introduction of a new chromogen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63, 287–296.

Food and Agriculture Organization of the United States. (2017). (FAOSTAT) Production of cassava. Available: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Accessed 29.05.17

Franck, H. et al. (2011) «Effects of cultivar and harvesting conditions (age, season) on the texture and taste of boiled cassava roots», *Food Chemistry*, 126(1), pp. 127-133. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.10.088.

García, J. A. et al. (2013) «Non-destructive sampling procedure for biochemical or gene expression studies on post-harvest physiological deterioration of cassava roots», *Postharvest Biology and Technology*. Elsevier B.V., 86, pp. 529-535. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.06.026.

Luna, J. L. (2016) «Identificación, selección y caracterización genética de genotipos de *Manihot esculenta* Crantz, por tolerancia al deterioro fisiológico pos-cosecha». Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia.

Morante, N. et al. (2010) «Tolerance to postharvest physiological deterioration in cassava roots», *Crop Science*, 50(4), pp. 1333-1338. doi: 10.2135/cropsci2009.11.0666.

Nhassico, D.; Muquingue, H.; Cliff, J.; Cumbana, A. y Bradbury, JH. (2008) «Rising African cassava production, diseases due to high cyanide intake and control measures», *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, pp. 2043-2049. doi: 10.1002/jsfa.

Olsen, K. M. y Schaal, B. A. (1999) «Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*.», *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(10), pp. 5586-91. doi: 10.1073/PNAS.96.10.5586.

Padonou, W., Mestres, C. y Nago, M. C. (2005) «The quality of boiled cassava roots: Instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties», *Food Chemistry*, 89(2), pp. 261-270. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.02.033.

Research program on roots, tubers and bananas (RTB), 2017. Cassava. Available: <http://www.rtb.cgiar.org/blog/2012/12/28/cassava/>. Accessed 30.05.17

Rogers, D. y Appan, S. (1973). *Manihot y Manihotoides (Euphorbiaceae): Un Estudio Asistido por Ordenador*. Flora Neotrópica (Monografía No. 13), Hafner Press, Nueva York.

Sánchez, T. et al. (2013) «Changes in extended shelf life of cassava roots during storage in ambient conditions», *Postharvest Biology and Technology*. Elsevier B.V., 86, pp. 520-528. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.07.014.

Simmonds N. (1976). *Evolution of crop plants*. 3 ed. Longman. London, p. 339

Wheatley, C. y Gómez, G. (1985) «Evaluation of some quality characteristics in cassava storage roots», *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, 35(2), pp. 121-129. doi: 10.1007/BF01092127.

Capítulo 2

Caracterización de los parámetros de calidad pos cosecha en las hojas de los genotipos de yuca pertenecientes a siete centros de diversidad

Resumen

El cultivo de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), se considera de gran importancia para la seguridad alimentaria debido a que es la cuarta fuente de energía más importante para millones de personas de países tropicales. Las hojas de yuca han sido consideradas como un producto secundario en la alimentación humana y animal, aunque son fuente de proteínas, minerales, vitaminas y aminoácidos esenciales. Las hojas de yuca se consumen principalmente en algunas regiones de África, Asia y América del Sur. El objetivo de este estudio fue caracterizar 112 genotipos de yuca por parámetros calidad poscosecha en sus hojas, estos genotipos están agrupados en siete diferentes centros de diversidad (Amazonas, Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico seco y húmedo) que corresponden a centros de domesticación del género *Manihot*. En este estudio se halló que el contenido de cianuro en hojas de yuca osciló entre 538 ppm hasta 6181 ppm. Además, se encontró que el contenido de all-trans- β -caroteno en hojas de yuca osciló entre 171 $\mu\text{g/g}$ hasta 525 $\mu\text{g/g}$. También, se reportó que las hojas tienen buen contenido valina, leucina, fenilalanina y lisina. En cuanto a las zonas de domesticación, Amazonas, Bosque Atlántico húmedo, Mesoamérica Caribe y Andina presentaron los genotipos de yuca con mayor contenido de HCN. Para el parámetro contenido de all-trans- β -caroteno el centro de diversidad de Amazonas presentó los genotipos de yuca con mayor concentración en sus hojas. Finalmente, se encontró una variabilidad genética que se pueden incluir en los programas de mejoramiento.

Palabras claves: Hojas de yuca, Carotenos, Cianuro, Proteína y Aminoácidos

2.1. Introducción

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un cultivo perenne nativo de América tropical, cuyo centro de origen es el noreste y el centro de Brasil (Hillocks, Thresh y Bellotti, 2002). El género *Manihot* contiene unas 100 especies, que se distribuyen desde el sur de los Estados Unidos hasta Paraguay y el norte de Argentina (Hershey, 1993). La yuca se ha convertido en un cultivo importante ya que es tolerante a la sequía y crece en suelos pobres en nutrientes, por lo que se consume donde la pobreza y la malnutrición son significativas siendo la cuarta fuente de energía en la alimentación humana de los países de los trópicos.

Las hojas de yuca son consideradas un subproducto de este cultivo. Estas se consumen como fuente de proteínas, vitaminas y micronutrientes en ensaladas o como acompañamiento de los platos principales en países del África central y Asia donde se cultivan durante todo el año (Achidi *et al.*, 2005; Ngudi, Kuo y Lambein, 2003). En Sierra Leona y Brasil, las mujeres embarazadas también consumen hojas de yuca para aumentar la producción de leche materna (Aregheore, 2012; Camara y Madruga, 2001). Además, las hojas de yuca son ricas en compuestos carotenoides como all trans- β -caroteno, molécula precursora de vitamina A y su consumo ayuda a contrarrestar el problema de salud de la deficiencia de vitamina A. (Siqueira *et al.*, 2007). En países como Brasil, Perú, Indonesia, Tailandia y Nigeria se utilizan principalmente en la alimentación animal en la producción de ensilajes.

Tanto las hojas como las raíces de la yuca contienen cantidades variables de glucósidos cianogénicos que se hidrolizan durante la digestión produciendo ácido cianogénico que representa un riesgo grave de intoxicación (Rosling, 1994). Las hojas de yuca tienen 5 a 20 veces más potencial cianogénico que las raíces pero también 200 veces más actividad linamarasa (Bokanga, 1994). Las hojas jóvenes emergentes tienen el nivel más alto de linamarina, que disminuye a 50-70% en las hojas maduras, mientras que las hojas en senescencia amarillas contienen cantidades insignificantes (Nambisan y Sundaresan, 2011). Para eliminar el contenido de cianuro de las hojas se han empleado técnicas de procesamiento como lavar, trocear, cocinar y secar, que reducen significativamente el nivel de toxicidad a un límite seguro para su consumo (Ngudi Kuo y Lambein, 2003). Las hojas de yuca insuficientemente procesadas pueden causar mareos, dolor de cabeza, fatiga, náuseas, diarrea, vómitos, dolores de estómago, debilidad y, a veces, la muerte (Nhassico

et al., 2008) y causar enfermedades como el Konzo. El objetivo de esta investigación es contribuir a la comprensión de la diversidad genotípica y fenotípica de la yuca, mediante la determinación de los parámetros calidad poscosecha de hojas de 112 genotipos de yuca pertenecientes a siete diferentes centros de diversidad (Amazonas, Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico seco y húmedo) que corresponden a centros de domesticación y diversificación del género *Manihot*. Esta caracterización permitirá desbloquear una importante fuente de información sobre la diversidad genética para mejorar las variedades que se adapte a la productividad futura, la nutrición y el medio ambiente.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Materiales

Las hojas de yuca se obtuvieron de 112 genotipos sembrados en el Centro Internacional de Agricultura Tropical localizado a 1100 m.s.n.m en Palmira, Colombia (03° 25'N; 76° 35'W). Para los análisis se colectaron las hojas ubicadas en la tercera línea contando a partir de la zona superior, de 5 plantas por cada clon a los 6 meses de edad fisiológica. Los genotipos de yuca se agruparon en siete grupos de diversidad para su estudio como se reportó en la tabla 2-1. La variación en el número de genotipos de diferentes países es representativa de la diversidad de germoplasma en la colección.

2.2.2. Cuantificación de carotenos en las hojas de yuca

La determinación y cuantificación de los carotenos totales y all-trans- β -caroteno se realizó de acuerdo con un procedimiento descrito por De Sá y Rodríguez-Amaya, 2004, donde se tomó: 1 g de tejido de yuca fresco de hojas de yuca. A la muestra se le agregó 5 ml de agua Milli-Q y se dejó en reposo durante 10 minutos. Luego, se le añadió 10 ml de acetona fría. Después de 10 minutos, se le adicionó 10 ml de éter de petróleo y se homogenizó en un Ultra-Turrax (Janke y Kunkel IKA) durante 30 segundos. La fase orgánica se extrajo

después de una centrifugación (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemania) a 3000 rpm, durante 10 min, a 10 °C. Se realizaron tres extracciones.

Después, se añadió 10 ml de solución salina NaCl 0,1M para realizar un proceso de lavado que se repitió tres veces más. Finalmente, se colocó a saponificar con KOH al 10% en metanol durante 4 horas relación 1:1. Se realizó seis lavados con 100 ml de agua mili Q para eliminar residuos de la saponificación. Después, se ajustó el volumen de los extractos con éter de petróleo con BHT al 0.1% y se procedió a leer en el espectrofotómetro a una absorbancia de 450 nm. Luego, los extractos se concentraron con gas nitrógeno y se reconstituyeron en fase móvil para una cuantificación adicional mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC.

❖ Condiciones del HPLC

Se utilizó un equipo HPLC Agilent 1200 series con automuestreador (4 °C), la fase móvil A: Metanol/Acetato amonio pH 4.6 (98:2), B: MTBE, gradiente A: B (85:15) 20 min (40:60), el volumen de inyección fue 10 µL, el flujo fue de 0.66 mL/min, la columna que se utilizó es YMC Carotenoid 150x4.6 mm a 25°C y el detector fue DAD, 450 nm.

2.2.3. Análisis de HCN total

Se cuantificó el contenido de HCN por espectrofotometría, de acuerdo a la metodología descrita por Essers *et al.*, 1993, empleando 4g de hojas de yuca.

2.2.4. Perfil de aminoácidos y cuantificación de proteína

El contenido de proteína en las hojas de yuca fue inicialmente cuantificado por el método Dumas (analizador elemental THERMOQUEST- CN, NF ISO 13878, 1998, Simmonne *et al.*, 1997). El análisis total de aminoácidos se realizó usando un analizador de aminoácidos de Biochrom 30 (Biochrom Ltd., Cambridge, Reino Unido). La cuantificación se realizó según Loscos *et al.*, 2008 comparando áreas de picos con un estándar completo que incluye 27 aminoácidos (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, Francia), y Norleucina se usó además como estándar interno. (250 nmol mL⁻¹ en tampón de citrato de sodio, 0,2 M, pH 2,2).

Tabla 2-1: Resumen de los centros de diversidad evaluados en este estudio y los genotipos que los conformaron

Zona de diversidad genética	Total genotipos	País	N° genotipos	País	N° genotipos
Amazonas	8	Brasil	2	Venezuela	1
		Colombia	5		
Andino	16	Bolivia	1	Panamá	1
		Colombia	3	Perú	6
		Ecuador	4		
		México	1		
Bosque Atlántico Seco	13	Argentina	1	Paraguay	7
		Bolivia	1	Perú	1
		Brasil	3		
Bosque Atlántico Húmedo	12	Brasil	8	México	1
		Colombia	2		
		Guatemala	1		
Mesoamérica Caribe	21	Brasil	1	Panamá	3
		Colombia	4	Puerto Rico	1
		Costa Rica	4	Venezuela	1
		Guatemala	4		
		México	3		
Sabana	21	Colombia	5	Guatemala	1
		Costa Rica	1	México	1
		Cuba	5	Venezuela	6
		Rep. Dominicana	1		
		Ecuador	1		
Selva tropical de América del sur	21	Brasil	7	Puerto Rico	1
		Colombia	2	USA	2
		Cuba	3	Venezuela	1
		Panamá	1		
		Paraguay	1		
		Perú	3		
Total de genotipos analizados	112				

2.2.5. Análisis estadístico

Con los datos promedios obtenidos por parámetro evaluado de cada genotipo perteneciente a los siete zonas de domesticación se realizaron análisis de varianza y comparación de medias por test de Tukey utilizando el software de análisis estadístico JMP versión 12.2 y paquete SAS (Versión 9,1) considerando que no hay diferencia significativa entre valores $P < 0,05$.

2.3. Resultados y Discusión

2.3.1. Caracterización de los genotipos de yuca evaluados

Los resultados de la caracterización de 112 genotipos de yuca evaluados de acuerdo a tres parámetros de calidad pos cosecha se reportaron en la Fig.2-1, donde se visualizó la amplia diversidad mediante graficas de distribución. El contenido de cianuro en hojas de yuca osciló entre 538 ppm hasta 6181 ppm con un promedio de 2772 ppm. El genotipo PER 593 tuvo la más baja concentración de cianuro y el genotipo COL 2316 presentó la más alta. Lancaster y Brooks, 1983 reportaron contenido de HCN presente en hojas de yuca en un rango de 80 a 1460 ppm. Mientras que, Nambisan y Sundaresan, 1994 encontraron que las hojas maduras generalmente tienen mayores cantidades de cianuro total que el parénquima, y este oscila entre 900 y 2000 ppm. Otros autores han reportado concentraciones de cianuro en hojas de yuca desde 113 ppm hasta 2230 ppm (Machado *et al.*, 2007).

Por otra parte, las hojas de yuca tienen un importante contenido de compuestos carotenoides en especial de all-trans- β -caroteno, el cual se puede comparar con el contenido del genero Brassica reconocido como fuente de precursores de la vitamina A (Siqueira *et al.*, 2007). El contenido de all-trans- β -caroteno en hojas de yuca osciló entre 171 $\mu\text{g/g}$ hasta 525 $\mu\text{g/g}$ con un promedio de 317 $\mu\text{g/g}$. El genotipo GUA52 tuvo la más baja concentración y el genotipo CUB23 presentó la más alta concentración de este compuesto (Fig. 2-1b). Otros estudios en hojas de yuca reportan 151 y 108 μg de all-trans-

β -caroteno por cada g de hojas en el norte de Brasil (Penteado *et al.*, 1986) mientras que Adewusi y Bradbury, 1993 encontraron hojas de yuca con 30 a 78 μg de all-trans- β -caroteno por g de hojas maduras frescas. En la Fig. 2-1c se reportó la distribución del contenido de carotenos totales en los genotipos evaluados, las concentraciones oscilaron desde 245 $\mu\text{g/g}$ hasta 776 $\mu\text{g/g}$ y una media de 472 $\mu\text{g/g}$. Los genotipos GUA52 y ECU21 tuvieron la concentración mínima y máxima de carotenos totales respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Latif y Müller, 2005 quienes obtuvieron concentraciones desde los 33 ppm hasta 436 ppm de carotenos totales.

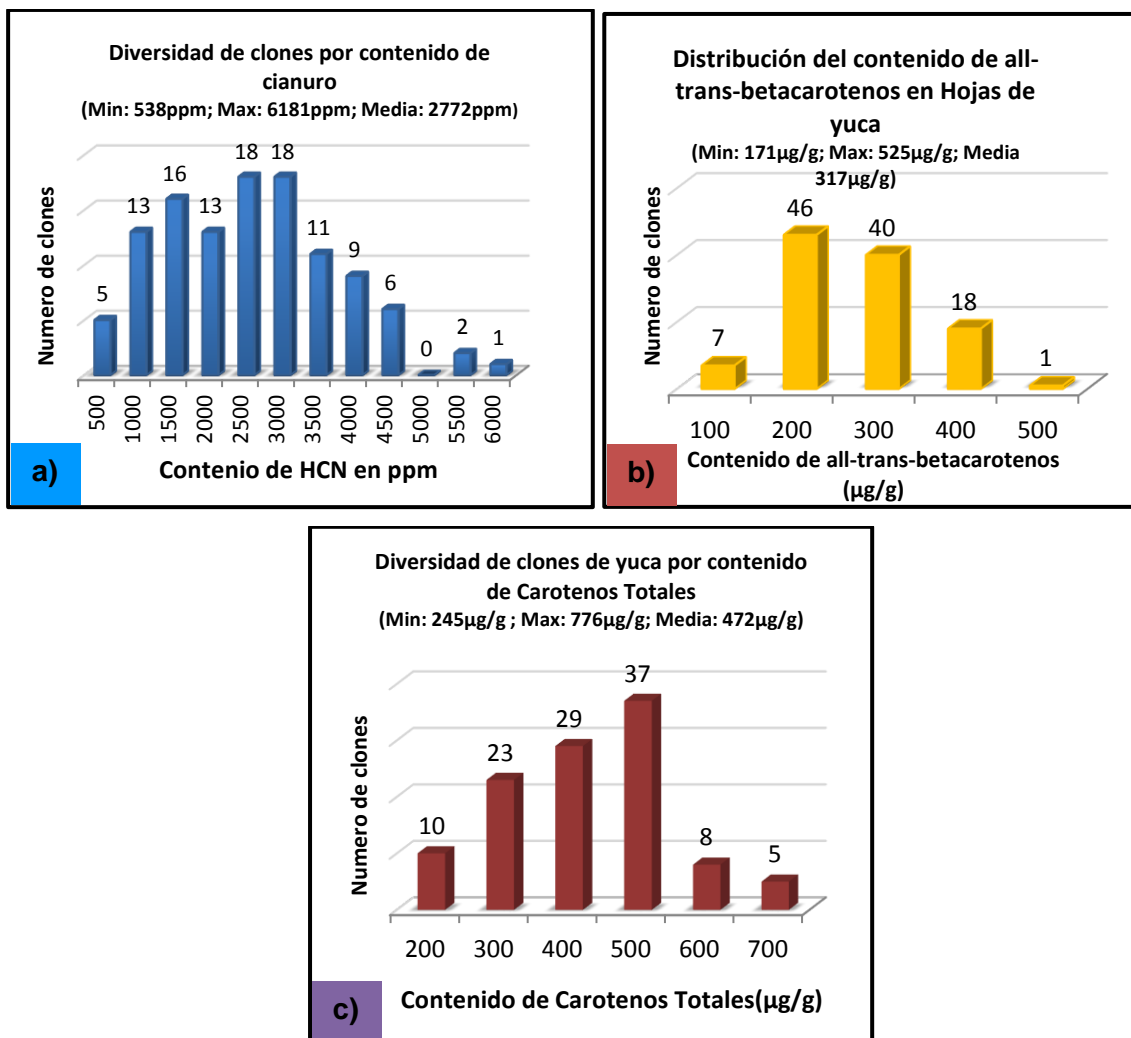


Figura 2-1: Gráficos de frecuencias de distribución (a) HCN (ppm); (b) all trans- β -caroteno ($\mu\text{g/g}$); (c) Carotenos totales ($\mu\text{g/g}$).

En cuanto a los resultados obtenidos para el contenido de proteína y perfil de aminoácidos en hojas de yuca se reportaron en la Tabla 2-2 donde se comparó el perfil de aminoácidos esenciales de Muller, 1975, con el reportado por la FAO, 1995 y el obtenido en este estudio. Se encontró que las hojas de yuca tienen bajo contenido de metionina e isoleucina. Sin embargo, presentaron buen contenido valina, leucina, fenilalanina y lisina conforme al criterio establecido por la FAO. El contenido de proteína total fue el 4,8%. Las hojas de yuca contienen alto contenido de proteína bruta aproximadamente del 3,8% dependiendo del cultivar y las condiciones climáticas (Awoyinka, Abegunde y Adewusi, 1995). También contiene altos contenidos de vitaminas, B1, B2, C, carotenoides y minerales como fósforo, magnesio, potasio y calcio, pero bajos contenidos de manganeso, zinc, hierro, cobre y sodio (Ravindran y Ravindran, 1988). Las hojas de yuca son ricas en proteínas, pero la proteína limita los aminoácidos que contienen azufre, metionina y cisteína/cistina (Bradbury y Denton, 2014) Las hojas de yuca son relativamente ricas en proteína bruta (167-399 g / kg base seca), tienen alto contenido de valina y leucina y bajo contenido de metionina (Nguyen *et al.*, 2012)

Tabla 2.2: Cuantificación de aminoácidos y proteína en hojas de yuca

Aminoácidos ¹	Autor	Muller,1975	FAO,1995
Valina	7,5	5,4	2,2
Metionina	2,1	1,7	2,2
Isoleucina	4,3	5	4,5
Leucina	8,8	8,9	4,8
Fenilalanina	5,8	5,8	2,8
Lisina	7,2	7,2	4,2
Proteína total ²	480	380	

¹Aminoácidos expresado en g por 16g de nitrógeno

²Proteína expresada en g por kg

2.3.2. Caracterización de los siete centros de diversidad

Se realizó los análisis de varianza para cada uno de los parámetros de calidad poscosecha, comparando los siete centros de diversidad. Los resultados se reportaron en las Fig.2-2 a la Fig.2-4, mediante una representación gráfica de rombos en donde la media está representada por la línea horizontal en la parte central de cada rombo y en el lado derecho se muestra la comparación de medias por test de Tukey-Kramer. En la Fig.2-2a se

reportó que existen diferencias significativas ($P > 0.0008^*$) entre los centros de diversidad para el parámetro contenido de HCN. Las zonas Amazonas, Bosque Atlántico húmedo, Mesoamérica Caribe y Andina presentaron los genotipos de yuca con mayor contenido de HCN.

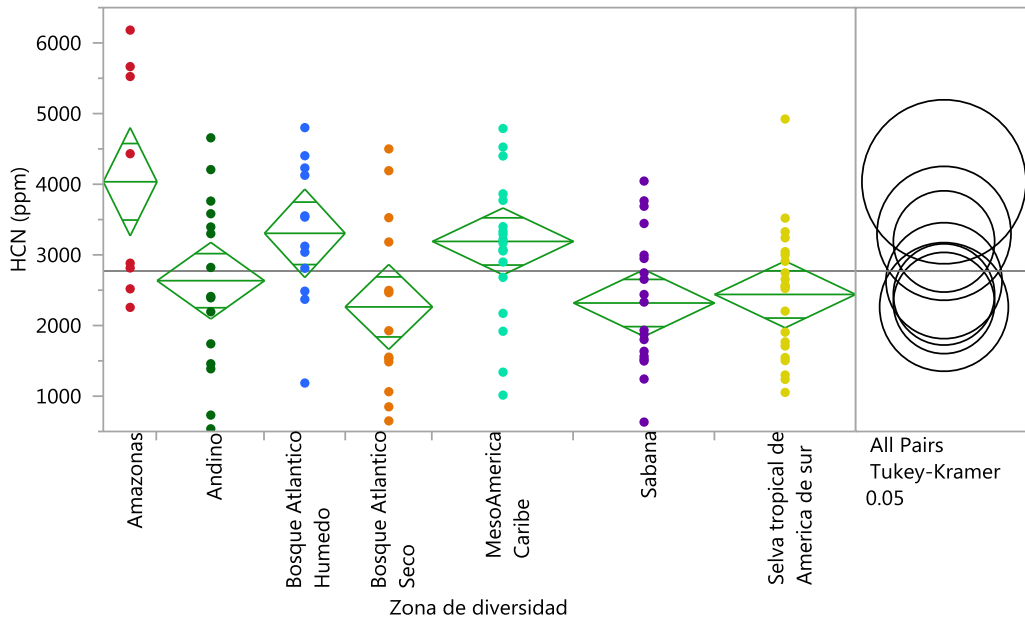


Figura 2-2: Análisis de varianza para el parámetro HCN por cada zona de diversidad

Tabla 2-3: Resultados comparación de medias para el parámetro HCN por cada zona de diversidad

Zona de diversidad		Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Amazonas	A	4034	386,33	8
Bosque Atlántico Húmedo	A B	3305	315,44	12
Mesoamérica Caribe	A B	3190	238,45	21
Andino	A B	2634	273,18	16
Selva tropical de América de sur	B	2440	238,45	21
Sabana	B	2318	238,45	21
Bosque Atlántico Seco	B	2263	303,06	13

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

En cuanto a los resultados obtenidos para el parámetro de carotenos totales reportado en la Fig. 2-3, no existen diferencias significativas ($P < 0,1712$) entre los centros de diversidad evaluados. En la Fig.2-4 se reportó que existen diferencias altamente significativas ($P > 0.0044^*$) entre las zonas evaluadas para el parámetro contenido de all-trans- β -caroteno en donde la zona Amazonas presentó los genotipos de yuca con la mayor concentración de este compuesto y la zona de Mesoamérica Caribe presentó los genotipos de yuca con menor concentración.

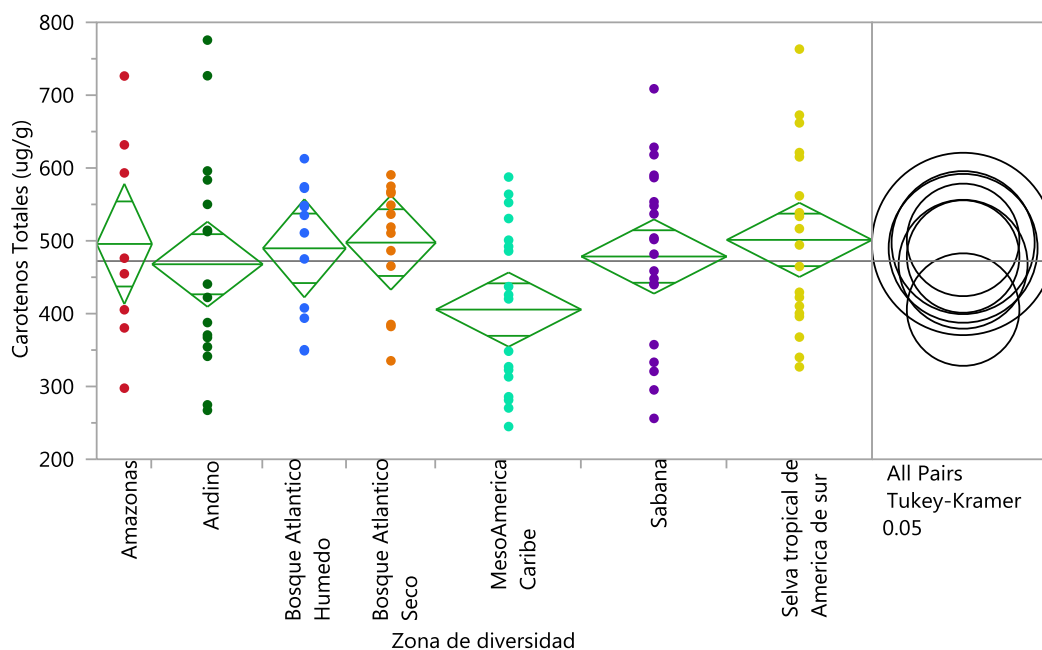


Figura 2-3: Análisis univariado para el parámetro contenido de carotenos totales por cada zona de diversidad

Tabla 2-4: Resultados comparación de medias para el parámetro contenido de carotenos totales por cada zona de diversidad

Zona de diversidad	Media	Desviación estándar	Número de genotipos
Selva tropical de América de sur	501	25,71	21
Bosque Atlántico Seco	497	32,68	13
Amazonas	496	41,66	8
Bosque Atlántico Húmedo	490	34,01	12
Sabana	478	25,71	21
Andino	468	29,46	16
Mesoamérica Caribe	405	25,71	21

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

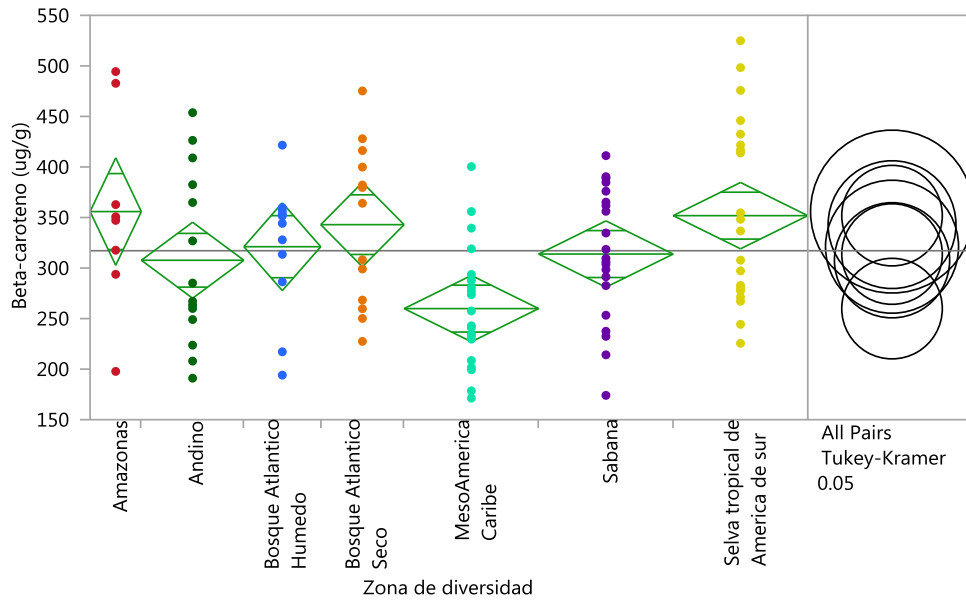


Figura 2.4: Análisis univariado para el parámetro contenido de all trans-β-caroteno por cada zona de diversidad

Tabla 2.5: Resultados comparación de medias para el parámetro contenido de all trans-β-caroteno por cada zona de diversidad

Zona de diversidad	Medias	Desviación estándar	Número de genotipos
Amazonas	A 356	26,81	8
Selva tropical de américa de sur	A 352	16,55	21
Bosque Atlántico Seco	A 343	21,03	13
Bosque Atlántico Húmedo	A B 321	21,89	12
Sabana	A B 314	16,55	21
Andino	A B 308	18,96	16
Mesoamérica Caribe	B 260	16,55	21

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintos.

2.4. Conclusiones

En cuanto a la caracterización de las hojas de yuca, se encontró que el contenido de HCN en hojas de yuca fue mas alto que el reportado en el capítulo anterior para las raíces de yuca. También, se encontró que el contenido de all-trans-β-caroteno en hojas de yuca es significativo y que su consumo contribuiría a cumplir con la ingesta diaria para producción de vitamina A. En cuanto a la caracterización de los siete centros de diversidad, se encontró que los centros Amazonas, Bosque Atlántico húmedo, Mesoamérica Caribe y Andino

presentaron los genotipos de yuca con mayor contenido de HCN. Mientras que para el contenido de all-trans- β -caroteno el centro de diversidad de Amazonas presentó los genotipos de yuca con mayor concentración en sus hojas de este compuesto. Además, se encontró que las hojas tienen bajo contenido de aminoácidos esenciales como metionina e isoleucina. Sin embargo, presentaron buen contenido de aminoácidos valina, leucina, fenilalanina y lisina conforme al criterio establecido por la FAO, 1995. El contenido de proteína total fue el 4,8 %. En general, se reportó que existe una variación genética útil en los parámetros evaluados que se pueden incluir en los programas de mejoramiento y que las hojas de yuca son una buena fuente de aminoácidos esenciales y carotenoides para la nutrición humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Achidi, A.U., Ajayi, O.A., Bokanga, M. y Maziya-Dixon, B. (2005). The use of cassava leaves as food from Africa. *Ecology of Food and Nutrition*. Volumen 44. pp. 423-435.

Adewusi, S.R.A. y Bradbury. J.H. (1993) Carotenoides en yuca: comparación de métodos de análisis de columna abierta y HPLC. *J. Sci. Comida Agric.* 62, pp. 375 – 383.

Aregheore, E.M. (2012). Valor nutritivo y factores antinutrientes inherentes en cuatro hortalizas de hoja comestibles autóctonas en nutrición humana en Nigeria: una revisión. *Journal of Food Resource Science*, pp. 1 – 14.

Awoyinka, A. F., Abegunde, V. O., y Adewusi, S. R. A. (1995). Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47,21e28.

Bokanga, M. (1994). Distribución del potencial cianogénico en el germoplasma de yuca. *Acta Horticulturae*. 375, pp. 117 - 123

Bradbury, J.H. y Denton, A.C. (2014). Mild method for removal of cyanogens from cassava leaves with retention of vitamins and protein. *Food Chemistry*. Volume 158, páginas 417-420.

Camara, F.S. y Madruga, M.S. (2001). Ácido cianhídrico, ácido fítico, contenido total de taninos y aflatoxinas de una preparación brasileña (natal) multimistura. Conteúdos de ácido cianídrico, ácido fítico, TATINO e aflatoxina em uma total de PREPARACAO brasileira (natal) de multimistura .14, pp. 33 – 36.

De Sá, M. y Rodriguez-Amaya, D.B. (2004). Optimization of HPLC quantification of carotenoids in cooked green vegetables—Comparison of analytical and calculated data. *Journal of Food Composition and Analysis* 17. 37–51 pp.

Essers, S.A., Bosveld, M., Griff, Van Der R. M., y Voragen, A. G. (1993). Studies on the quantification of specific cyanogens in cassava products and introduction of a new chromogen. *J. Sci. Food Agric.* 63, 287-296.

FAO/OMS (1995). Codex standard for edible cassava flour. In Joint FAO/WHO food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission (Vol. Codex Standard 176-1989). Rome, Italy.

Hershey, C. H. (1993) «Cassava», Genetic Improvement of Vegetable Crops, pp. 669-691. doi: 10.1016/B978-0-08-040826-2.50050-3.

Hillocks, R.J., Tresh, J.M., y Bellotti, A.C. (2002). Production and Utilization. Cassava: Biology, (pp. 1–16), CABI Publishing Oxon, UK and New York, USA.

Lancaster, P.A. y Brooks. J.E. (1983) Cassava leaves as human food. *Economic Botany*, 37 (1983), pp. 331-348

Latif, S. y Müller, J. (2015). Potential of cassava leaves in human nutrition: A review. *Trends in Food Science & Technology*. Volume 44, Issue 2, Pages 147–158. doi:10.1016/j.tifs.2015.04.006

Loscos N., Ségurel M., Dagan L., Sommerer N., Marlin T., y Baumes R. (2008). Identification of S-methylmethionine in Petit Manseng grapes as dimethyl sulphide precursor in wine. *Analytica Chimica Acta*, 621:24–29.

Nambisan B., y Sundaresan S. (1994). Distribución de linamarina y sus enzimas metabolizantes en tejidos de yuca. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 66, pp. 503 – 507.

Ngudi, D. D., Kuo, Y. H. y Lambein, F. (2003) «Cassava cyanogens and free amino acids in raw and cooked leaves», *Food and Chemical Toxicology*, 41(8), pp. 1193-1197. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00111-X.

Machado, E.; Fernandes, S.; Martins, R.; y Tala de Souza. I. (2007). β -Caroteno de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) deja mejora de vitamina A en ratas. *Bioquímica Comparada y Fisiología de la Parte C: Toxicología y Farmacología*. Volumen 146, Temas 2.1, páginas 235-240. doi: 10.1016 / j.cbpc.2006.12.006

Muller Z., Chou, K. C., y Nah, K. C. (1975). La yuca como sustituto total de cereales en las raciones del ganado y de las aves de corral. Roma, FAO, *Rev. Mundial Zootecnia* 12:19-24. Citado en: Montaldo, Alvaro. La yuca o mandioca. 1 ed. San Jose, Costa Rica: IICA, 1985. 386 p ISBN 92-9039-053-0

Nhassico, D., Muquingue, H., Acantilado, J., Cumbana, A., y Bradbury, J.H., (2008). Rising African cassava production, diseases due to high cyanide intake and control measures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol 88. pp. 2043–2049.

Nguyen, T. H. L. et al. (2012) «Ileal and total tract apparent crude protein and amino acid digestibility of ensiled and dried cassava leaves and sweet potato vines in growing pigs», *Animal Feed Science and Technology*. Elsevier B.V., 172(3-4), pp. 171-179. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.11.009.

Penteado, M.V.C., Minazzi-Rodriguez, R.S., Y Almeida L.B., (1986). Carotenóides e atividade pró-vitamina A de folhas de hortaliças consumidas no norte do Brasil. *Rev. Granja. Bioquim.* , 22, pp. 97 – 102.

Ravindran, G., Y Ravindran, V. (1988). Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. *Food Chemistry*, 27, 299e309.

Rosling, H., (1994). Measuring effects in humans of dietary cyanide exposure from cassava. *Acta Hort.* 375, 271–283.

Siqueira, E. M. de A. et al. (2007) « β -Carotene from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves improves vitamin A status in rats», *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(1-2 SPEC. ISS.), pp. 235-240. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.12.006.

Simonne A. H., Simonne E. H., Eitenmiller R. R., Mills H. A. y Cresman C. P. (1997). Could the Dumas method replace the Kjeldahl digestion for nitrogen and crude protein determinations in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73:39-45

Capítulo 3

Caracterización fisicoquímica de almidones y harinas de yuca

Resumen

El objetivo de esta investigación fue caracterizar genotipos de yuca por parámetros fisicoquímicos de almidones y harinas de yuca pertenecientes a siete diferentes centros de diversidad (Amazonas, Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico seco y húmedo) que corresponden a centros de domesticación y diversificación del género *Manihot*. En la caracterización se obtuvo que la V_{max} promedio fue de 881.34 cP y osciló de 486.65 cP a 1068.79 cP. La V_{min} promedio fue de 474.88 cP y osciló de 224.41 cP hasta 775.97 cP y la V_{final} promedio fue de 769.80 cP y osciló de 279.91 cP hasta 1128.97 cP. Mientras que, la temperatura de empastamiento promedio de los 73 genotipos fue de 66.9°C y varió de 63.0°C a 70.1°C. El porcentaje de claridez del gel osciló entre 44.55% y 69.05%. En la caracterización del contenido de azúcares en las harinas de yuca se encontró mayor concentración de glucosa, mientras que la concentración de rafinosa fue la más baja. En cuanto al perfil de ácidos orgánicos, se encontró mayor concentración de ácido cítrico, D_malico y succínico, también se reportó una baja concentración de ácido oxálico, cisaconítico y fumarico. Las propiedades distintivas de los almidones y harinas de yuca demostradas en este estudio sugieren nuevas oportunidades para aplicaciones industriales.

Palabras claves: Propiedades de empastamiento, Almidón, Harina, Azúcares y Ácidos orgánicos.

Abreviaciones

V_{max} : Viscosidad máxima; V_{min} : Viscosidad mínima; V_{final} : Viscosidad Final; TP: Temperatura de empastamiento; IS: Índice de solubilidad, PH: Poder de hinchamiento

3.1. Introducción

El almidón es el segundo polisacárido más abundante y se encuentra en los cloroplastos de las plantas como reserva de energía. Los gránulos de almidón están compuestos por amilosa y amilopectina. Su uso en la industria depende de la proporción de amilosa y amilopectina que determina la viscosidad, gelatinización, y solubilidad del almidón (Seymour y Carraher, 1995). El almidón comercial se obtiene principalmente a partir de maíz, papa, trigo, arroz, cebada, yuca y sorgo (FAO, 2007).

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un cultivo importante para África, Asia y América Latina, transcendental para la seguridad alimentaria de sus productores. Según la FAO, 2013, la yuca es el cultivo para el siglo XXI, paso de ser el “alimento de los pobres” y se ha transformado en un cultivo polivalente que responde a las prioridades de los países en desarrollo, a las tendencias de la economía mundial y al desafío del cambio climático.

La raíz de yuca contiene más almidón, por peso en seco, que casi cualquier otro cultivo alimentario, aunque su contenido proteico es muy bajo (0.1%), también contiene entre 16 a 17% de amilosa, 83-84% de amilopectina, 40% de cristalinidad, baja temperatura de gelatinización y buena estabilidad del gel (Ospina *et al.*, 2002) debido a esto se utiliza como aditivo en la elaboración de productos de panificación, como agente estabilizador de sopas y alimentos congelados. También, se utiliza en otros sectores industriales como: revestimiento de pastillas y papel, en la preparación de pegantes, para el acabado de textiles, en la elaboración de etanol e incluso como agente de cohesión en el concreto (Brabet *et al.*, 1996; Defloor *et al.*, 1998; Charles *et al.*, 2004; Sandoval *et al.*, 2007).

De igual forma, la harina de yuca es cada vez más popular como sustituto parcial de la harina de trigo. Según la norma del Codex Stan 176-1989, la harina de yuca es considerada un producto blanco y fino que se obtiene con un proceso de pulverización, secado y molienda de raíces de yuca, seguido de un tamizado para separar la fibra de la harina. Los parámetros de calidad especifican el contenido de humedad máximo de 13% p/p, y el contenido de ácido cianhídrico que no exceda del 10 mg / kg.

La harina de yuca contiene además de almidón, azúcares y fibra. Esta es utilizada en la elaboración de productos de panificación, condimentos, pastas y embutidos. Al no ser la

yuca una fuente de gluten, puede ser consumida sin problemas, por personas que tienen intolerancia al gluten. (Sciarini *et al.*, 2008; Pasqualone *et al.*, 2010). El interés de los productores de alimentos por sustituir en ciertos porcentajes la harina de trigo, por la harina de yuca, se ha ido incrementado en los últimos años, debido al aumento en los precios del trigo a nivel mundial. Como en el caso de Nigeria, en donde el 70% de la producción de yuca es utilizada para la obtención de harina y cada año la sustitución del 15% de harina de trigo le ahorra a este país aproximadamente 15 millones de dólares de divisas. (FAO, 2000).

El objetivo de esta investigación es contribuir a la comprensión de la diversidad genotípica y fenotípica de la yuca, mediante caracterización por parámetros fisicoquímicos de almidones y harinas de yuca pertenecientes a siete diferentes centros de diversidad (Amazonas, Andina, Sabana, Mesoamérica caribe, Selva tropical de América del Sur, Bosque atlántico seco y húmedo) que corresponden a centros de domesticación y diversificación del género *Manihot*.

3.2. Metodología

3.2.1. Materiales

Se utilizaron 73 muestras de almidón de yuca y de harina de yuca pertenecientes a la colección de diversidad genética de CIAT. Estos genotipos fueron sembrados en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, Palmira, Colombia; 3° 30 'N, 76° 21' W; precipitación promedio anual: 1021 mm; Altitud: 1000 msnm; temperatura media anual: 26°C) y se cosecharon a 10 meses después de la siembra durante dos ciclos de cosecha. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

3.2.1.1. Producción de almidón de yuca

Se suspendieron trozos recién cortados de raíces de yuca en agua del grifo y se trituraron en un procesador de alimentos Waring de 4 L de capacidad (New Hartford, CT). La suspensión se filtró a través de un tamiz de 100 µm. El almidón se dejó sedimentar y el sobrenadante se decantó. Los sólidos se lavaron con agua destilada dos veces y se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos. La muestra se secó luego en un horno

convección forzada a 40°C durante 36 horas (Thelco Oven model 28, Precision Scientific Subsidiary de GCA Corp., Chicago, IL).

3.2.1.2. Producción de harina de yuca

Las raíces de yuca se pelaron y lavaron manualmente con agua potable. Luego se trocearon en un procesador de alimentos Waring de 4 L de capacidad (New Hartford, CT) hasta un tamaño aproximado de 1 cm de ancho y 3 cm de largo. Los trozos se secaron en un horno de convección forzada (ThelcoOvenmodel 28, Precision Scientific Subsidiary de GCA Corp., Chicago, IL) a temperatura de 40°C durante 36 horas Para la reducción de tamaño se utilizó un molino de martillo y un tamizador con malla de 150 micrómetros.

Tabla 3-1. Resumen de los centros de diversidad evaluados en este estudio y los genotipos que los conformaron

Zona de diversidad genética	Total genotipos	País	N° genotipos	País	N° genotipos
Amazonas	5	Brasil	1	Venezuela	1
		Colombia	3		
Andino	17	Colombia	4	Perú	6
		Costa Rica	1	Puerto Rico	1
		Ecuador	5		
Bosque Atlántico Seco	9	Argentina	1	Paraguay	2
		Bolivia	1	Perú	1
		Brasil	4		
Bosque Atlántico Húmedo	8	Brasil	5	México	1
		Colombia	2		
Mesoamérica Caribe	10	Brasil	1	Guatemala	1
		Colombia	5	México	1
		Costa Rica	1	Panamá	1
Sabana	13	Colombia	5	Rep. Dominicana	1
		Cuba	4	Venezuela	3
Selva tropical de América del sur	11	Brasil	4	Guatemala	1
		Colombia	2	Panamá	1
		Cuba	2	Venezuela	1
Total de genotipos analizados	73				

3.2.2. Caracterización fisicoquímica de los almidones

3.2.2.1. Contenido de humedad

Se pesó 10 g de cada muestra de almidón (peso inicial) luego se colocaron a 105°C durante 24 h y se pesaron de nuevo (peso seco). La humedad expresada como porcentaje se determinó como $(\text{peso seco}/\text{peso inicial}) * 100$. Se realizaron tres cuantificaciones diferentes por cada muestra de almidón y luego se calcularon los valores medios.

3.2.2.2. Contenido de amilosa

Este parámetro se midió siguiendo procedimientos colorimétricos estándar del protocolo ISO 6647 DE 1987. Se pesó 0.1 g en base seca de almidón, los gránulos de almidón se dispersaron primero con etanol y luego se gelatinizaron con hidróxido sódico 1N. Luego, se tomó una alícuota de 5 ml de la solución anterior y se le agregó 1 ml de ácido acético 1N y 2 ml de una solución de yodo al 2%, que produce una coloración azul negro. La intensidad del color, está relacionada con el contenido de amilosa. Después se midió con un espectrofotómetro (longitud de onda de 620 nm) y se comparó con curvas estándar (usando concentraciones de amilosa que varían de 0 a 30%). Las curvas se obtuvieron usando amilosa purificada extraída de tubérculos de papa y amilopectina extraída de raíces de yuca. Se realizaron tres cuantificaciones diferentes por muestra de almidón y luego se calcularon los valores medios.

3.2.2.3. Claridez del gel

La metodología sugerida por Craig *et al.*, 1989 fue utilizada. Se pesaron 200 mg de almidón en base seca y se diluyeron en 20 ml de agua destilada. Luego, se colocaron en baño maría a 97°C (1000 msnm) con agitación completa cada 5 min hasta completar 30 min. La transmitancia se midió a 650 nm después de que el almidón se había enfriado a temperatura ambiente. Se realizaron dos cuantificaciones diferentes por muestra de almidón y luego se calcularon los valores medios.

3.2.2.4. Propiedades de empastamiento

Los perfiles de viscosidad fueron obtenidos con un Rapid Visco Analyser model RVA-4 Series (Newport Scientific, Warriewood, Australia) según procedimiento descrito en Sánchez *et al.*, 2010. En este análisis se mide el comportamiento de los geles de almidón cuando se someten a calentamiento o enfriamiento. El almidón (1,25 g bs) se dispersó en agua destilada (cerca de 23 cm³) hasta una suspensión del 5%. La viscosidad se registró utilizando el siguiente perfil de temperatura: 50 °C durante 1 min, se calentó de 50°C a 90 °C por 6°C min⁻¹, se sostuvo la temperatura en 90°C durante 5 min, y después se enfrió a 50°C a 6°C min⁻¹ con agitación continua a 160 rpm. Se utilizó concentración 10% w harina / v inhibidor, inhibidor de amilasa nitrato de plata (AgNO₃ 0,002 mol L⁻¹). Se midieron cuatro parámetros: temperatura de empastamiento (TP), viscosidad máxima (V_{max}), viscosidad de la pasta caliente al final de la meseta a 90 ° C (VPC) y viscosidad de la pasta fría (VPF) a 50 °C.

3.2.2.5. Determinación del Índice de solubilidad (IS) y de poder de hinchamiento (PH)

El índice de solubilidad (IS) y el poder de hinchamiento (PH) se determinaron usando dispersiones de almidón de 1% (p/p). Es decir, se pesaron 0,28 g bs de almidón dispersos en 28 g de agua destilada). La baja concentración utilizada en el estudio se eligió para obtener una separación óptima entre las fases del sedimento y el sobrenadante después de la centrifugación. El gel se preparó en RVA comenzando a 35°C durante 1 minuto, aumentando las temperaturas a una tasa de 6°C min⁻¹ hasta los 10 minutos, donde se mantuvo a 90°C por 2.5 minutos. La agitación fue a 960 rpm durante el primer minuto y luego se mantuvo a 160 rpm durante todo el análisis. La pasta se transfirió a la centrífuga por 10 min a 7000 rpm y 25°C, después el sobrenadante y el sedimento se separaron y se pesó ($W_{\text{sobrenadante}}$ y W_{gel} , respectivamente) y luego se secaron a 100 °C durante 48 h y se tomó el peso seco de los dos ($D_{\text{sobrenadante}}$ y W_{gel} , respectivamente). Los valores obtenidos se utilizaron para el índice de solubilidad (IS) y el poder de hinchamiento (PH), con las siguientes ecuaciones:

$$IS (\%) = \frac{100 \times D_{\text{sobrenadante}}}{0.28} \quad \text{EC 3.1}$$

$$PH \left(\frac{g \text{ agua}}{g \text{ almidon}} \right) = \frac{W_{\text{gel}} \times D_{\text{gel}}}{D_{\text{gel}}} \quad \text{EC 3.2}$$

3.2.3. Caracterización fisicoquímica de harinas de yuca

3.2.3.1. Determinación de azúcares solubles y ácido orgánicos

Los análisis sobre azúcares y ácidos orgánicos se hicieron para las muestras de harinas según Holloway *et al.*, 1989. Cada medición se realizó en base al peso seco. Se pesó 0.5 g de muestra y luego se agregó 10 mL de fase móvil (0.005 M de H₂SO₄). Se homogenizó en el ultraturrax durante 30 segundos. Después, se agitó en un agitador horizontal durante 20 minutos a 330 revoluciones por minuto (rpm). Las muestras se centrifugaron a 8000 rpm por 10 minutos a 25°C y el sobrenadante se filtró a través de una membrana de 0.22 µm. Finalmente, las muestras se depositaron en viales de 1.5 mL. Los azúcares y ácidos orgánicos se analizaron por HPLC usando una columna Biorad, Aminex HPX 87H, equipada con un detector de UV (MWD G 1365D para ácidos orgánicos) ajustado a 210 × 10⁻¹² m y conectado en serie con un detector de índice de refracción (RID G 1362A para azúcares) y una válvula de inyección equipada con un lazo de 15 × 10⁻⁶ L. Las muestras se separaron isocráticamente a 10⁻⁵ L s⁻¹, a 30°C DO. Se prepararon tiempos de retención y curvas estándar para los siguientes azúcares: glucosa (Sigma-Aldrich G7528), fructosa (Sigma-Aldrich F2543) y sacarosa (Sigma-Aldrich (≥99.5%) S7903) y para los siguientes ácidos orgánicos: cítricos (Sigma-Aldrich CO759), málico (Sigma-Aldrich (99%) 240179), succínico (Sigma-Aldrich (99%) S3674) y fumárico (Supel-Co Analytical R412205).

3.2.4. Análisis estadístico

Con los datos promedios obtenidos por parámetro evaluado de cada genotipo perteneciente a los siete zonas eco geográficas se realizaron: pruebas de comparación de medias mediante test de Tukey, análisis de varianza y correlación de Pearson utilizando el software de análisis estadístico JMP versión 12.2 y paquete SAS (Versión 9,1) considerando que no hay diferencia significativa entre valores P < 0,05.

3.3. Resultados y Discusión

Las propiedades de empastamiento de las 73 muestras de almidones de yuca analizadas se reportaron en la Tabla 3-1. La V_{max} promedio fue de 881.34 cP y osciló de 486.65 cP a 1068.79 cP. También, se reportó que para este parámetro existen altamente diferencias significativas ($< 0.0107^*$) entre los centros de diversidad, donde la zona Bosque Atlántico Húmedo presentó los genotipos con mayor V_{max} ($\mu=910.02$ cP) y la zona Selva tropical de América del sur presentó los genotipos con menor V_{max} ($\mu=693.41$ cP) (Fig. 3-1). Esta variabilidad en almidones de yuca también fue reportada por Sanchez *et al.*, 2009, quienes encontraron valores de V_{max} de 1505 mPa s hasta 146 mPa s. Otros autores mencionan que la viscosidad de la yuca es inicialmente alta, pero decae bruscamente con la agitación continua por encima de 90°C. Este comportamiento lo hace tecnológicamente conveniente como sustrato para procesos hidrolíticos pero inapropiado como sustituto para los almidones de cereales en procesos que requieren retrogradación. Alcanza rápidamente el pico de viscosidad máxima lo que implica que es un almidón fácil de cocinar y requiere menor consumo de energía. En cuanto a los resultados obtenidos para las variables de V_{min} y V_{final} existieron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001^*$) entre las zonas evaluadas. Siendo la zona del Amazonas la que presentó los valores más bajos mientras que la zona Sabana presentó los valores más altos (Fig. 3-2 y Fig.3-3). Según Tabla 3-1, La V_{min} promedio fue de 474.88 cP y osciló de 224.41 cP hasta 775.97 cP y la V_{final} promedio fue de 769.80 cP y osciló de 279.91 cP hasta 1128.97 cP.

Tabla 3-2: Propiedades funcionales y fisicoquímicas de los almidones analizados

Parámetro	Valor máximo	Valor mínimo	Promedio	DE
V_{max} (cP)	1068.79	486.65	811.34	126
V_{min} (cP)	775.97	224.41	474.88	76
V_{final} (cP)	1128.97	279.91	769.80	133
VPC (cP)	817.47	256.91	496.96	77
VPF (cP)	1058.97	259.91	696.38	121
TP (°C)	70.07	63.02	66.95	1
Amilosa (%)	25.41	15.00	20.46	2
Claridez (%)	69.05	44.55	57.04	5
IS (% bs)	19.82	9.16	14.53	3
PH (gAgua/gAlmidon)	32.79	13.64	24.85	3

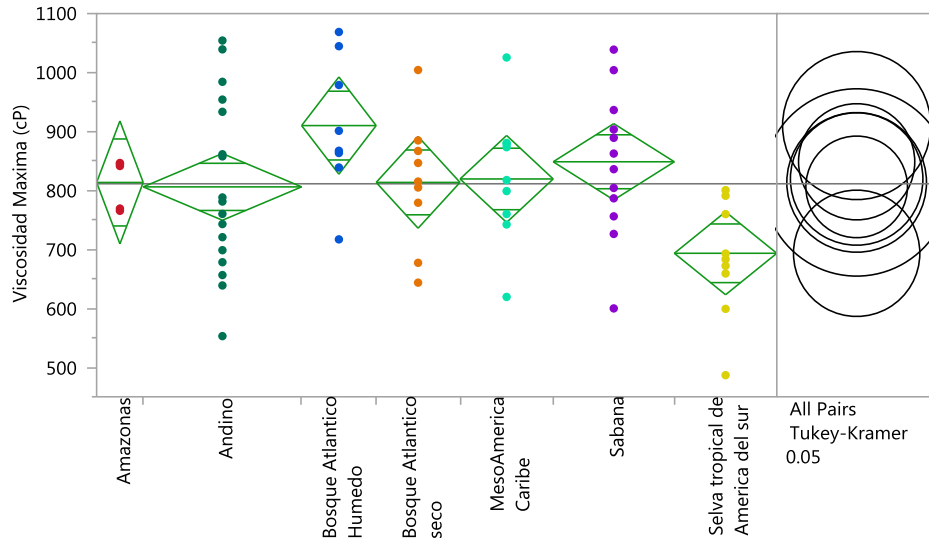


Figura 3-1: Análisis univariado para el parámetro Vmax (cP) por cada zona de diversidad

Tabla 3-3: Resultados comparación de medias para el parámetro Vmax (cP)

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Bosque Atlántico Húmedo	A	910.02	41.31	8
Sabana	A	848.62	32.41	13
Mesoamérica Caribe	A B	819.47	36.95	10
Bosque Atlántico seco	A B	813.64	38.95	9
Amazonas	A B	813.55	52.25	5
Andino	A B	806.05	28.34	17
Selva tropical de América del sur	B	693.41	35.23	11

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

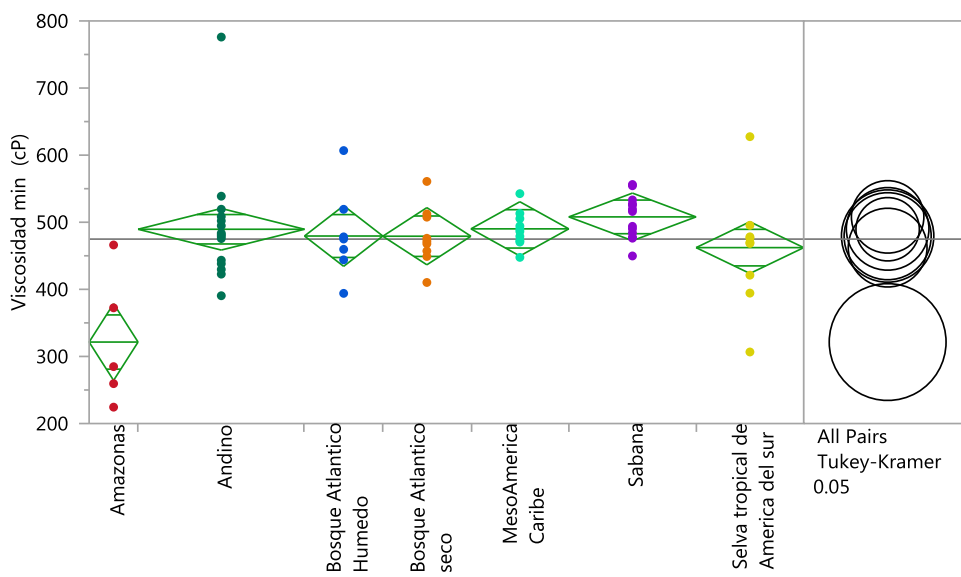
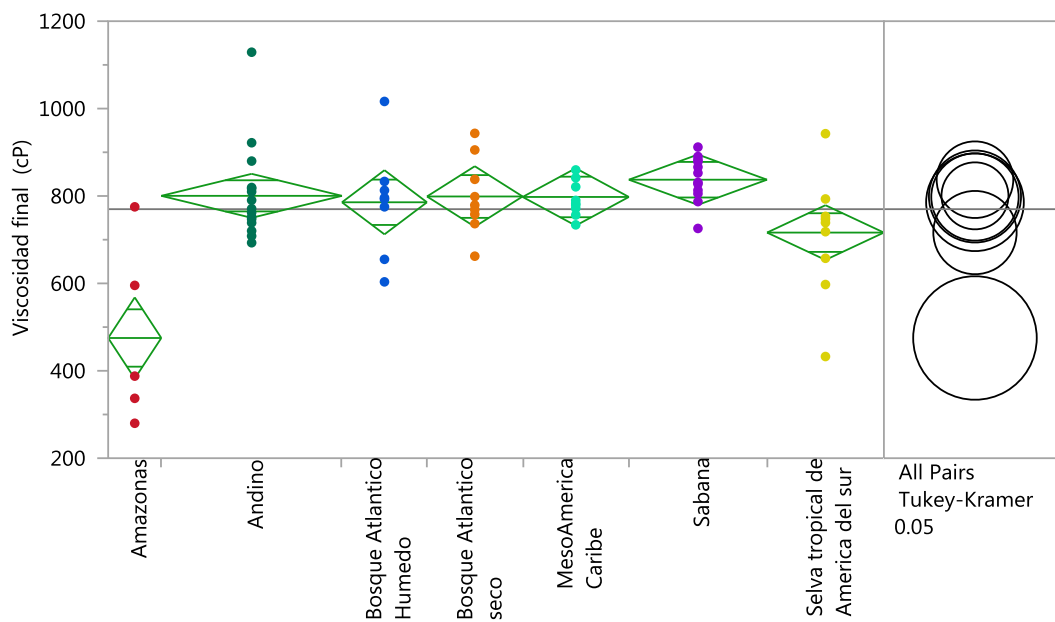


Figura 3-2: Análisis univariado para el parámetro Vmin (cP) por cada zona de diversidad

Tabla 3-4: Resultados comparación de medias para el parámetro Vmin (cP)

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Sabana	A	507.98	17.75	13
Mesoamérica Caribe	A	490.12	20.24	10
Andino	A	489.54	15.52	17
Bosque Atlántico Húmedo	A	479.46	22.63	8
Bosque Atlántico seco	A	479.17	21.34	9
Selva tropical de América del sur	A	462.18	19.30	11
Amazonas	B	321.45	28.62	5

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

**Figura 3-3:** Análisis univariado para el parámetro Vfinal (cP) por cada zona de diversidad**Tabla 3-5:** Resultados comparación de medias para el parámetro Vfinal (cP)

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Sabana	A	837.23	28.82	13
Andino	A	800.31	25.21	17
Bosque Atlántico seco	A	798.85	34.64	9
Mesoamérica Caribe	A	797.76	32.87	10
Bosque Atlántico Húmedo	A	785.58	36.74	8
Selva tropical de América del sur	A	716.26	31.34	11
Amazonas	B	475.05	46.48	5

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

La zona del Selva tropical de América del Sur presentó la más alta TP ($\mu=67.71^{\circ}\text{C}$) mientras que la zona Andina presentó los almidones con menor TP ($\mu=66.13^{\circ}\text{C}$). La figura 3-4 indicó que existen diferencias altamente significativas ($P=0.0478^*$) entre las zonas evaluadas. La temperatura de empastamiento promedio de los 73 genotipos fue de 66.95°C y varió de 63.02°C a 70.07°C . Otros autores reportaron datos similares con TP promedio de 65.37°C y varió de 58.8°C a 71.2°C (Sánchez *et al.*, 2010). Otros autores mencionan que la temperatura de empastamiento (63°C) es similar a la del almidón de papa, pero está por debajo de las temperaturas de gelatinización de los cereales ($74\text{-}81^{\circ}\text{C}$).

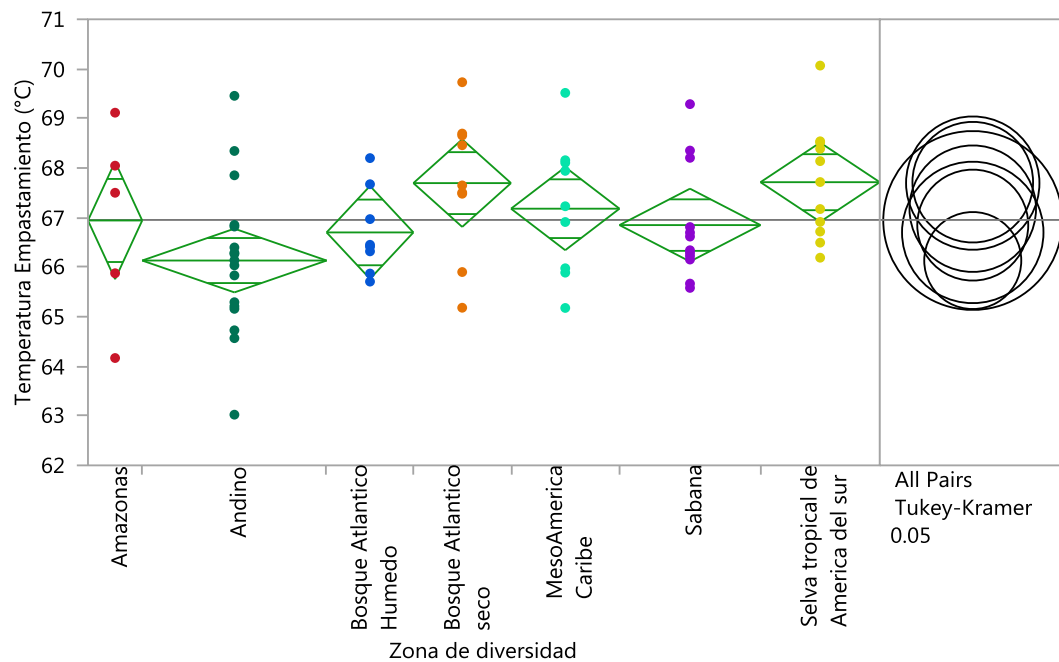


Figura 3-4: Análisis univariado para el parámetro TP ($^{\circ}\text{C}$)

Tabla 3-6: Resultados comparación de medias para el parámetro TP ($^{\circ}\text{C}$)

Zona de diversidad		Media	DE	N°de genotipos
Selva tropical de América del sur	A	67.71	0.40	11
Bosque Atlántico seco	A B	67.69	0.44	9
Mesoamérica Caribe	A B	67.18	0.42	10
Amazonas	A B	66.94	0.59	5
Sabana	A B	66.85	0.37	13
Bosque Atlántico Húmedo	A B	66.70	0.47	8
Andino	B	66.13	0.32	17

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis de contenido de amilosa (%), no hubo diferencias significativas ($P < 0,8695$) entre siete centros de diversidad y el contenido de amilosa varió entre 15% hasta el 25% (Tabla 3-6). Según lo reportado por (Morante *et al.*, 2016) encontraron genotipos de yuca con contenido de amilosa de 0% hasta 30,2%. Valores altos en el contenido de amilosa favorecen una mayor solubilidad, mayor viscosidad, mejor claridad del gel y mayor tendencia a la retrogradación de los geles (Ceballos *et al.*, 2008).

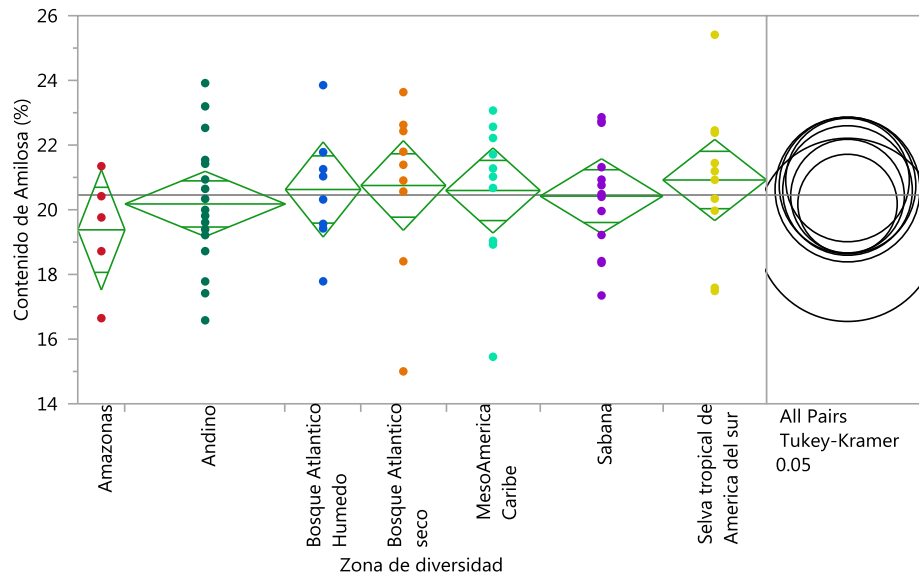


Figura 3-5: Análisis univariado para el parámetro contenido de amilosa (%)

Tabla 3-7: Resultados comparación de medias para el parámetro contenido de amilosa (%)

Zona de diversidad	Media	DE	N° de genotipos
Selva tropical de América del sur	20.92	0.93	5
Bosque Atlántico seco	20.75	0.50	17
Bosque Atlántico Húmedo	20.62	0.74	8
Mesoamérica Caribe	20.59	0.69	9
Sabana	20.42	0.66	10
Andino	20.18	0.58	13
Amazonas	19.38	0.63	11

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

La claridad del gel o de la pasta indica la opacidad o transparencia de los geles de almidón y este parámetro está relacionado con el estado de dispersión de los solutos y con la tendencia a la retrogradación de los almidones (Aristizábaly Sánchez 2007). La zona del Amazonas presentó los genotipos de yuca con geles de almidón más translúcidos mientras

que la zona de Selva tropical de América del Sur presentó los geles de almidon menos translucidos. La figura 3-6 indicó que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.0005^*$) entre las zonas evaluadas. El porcentaje de claridez osciló entre 44.55% y 69.05% reportado en Tabla 3-8. Según Craig *et al.*, 1989, los geles de almidón con valores de claridez menores 40% se clasifican como opacos y valores mayores de 40% se consideran como translucidos o transparentes, en este estudio todos los almidones se clasificaron como de geles translucidos. Otros autores reportan geles del almidón de yuca libre de amilosa más claros (63.5%) que los de la yuca normal (49.9%) (Morante *et al.*, 2016).

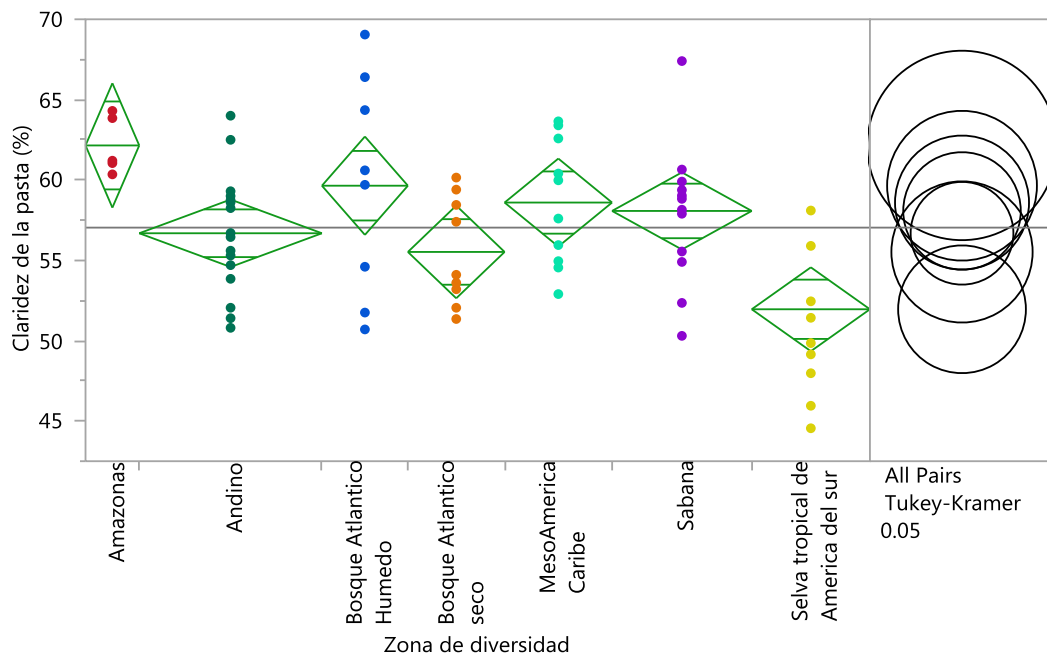


Figura 3-6: Análisis univariado para el parámetro claridez (%)

Tabla 3-8: Resultados comparación de medias para el parámetro claridez (%)

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Amazonas	A	62.15	1.94	5
Bosque Atlántico Húmedo	A	59.64	1.53	8
Mesoamérica Caribe	A	58.60	1.37	10
Sabana	A	58.07	1.20	13
Andino	A B	56.68	1.05	17
Bosque Atlántico seco	A B	55.52	1.44	9
Selva tropical de América del sur	B	51.95	1.31	11

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis de IS, existen diferencias altamente significativas ($P=0.0082^*$) entre las zonas evaluadas (Fig.3-7). El centro de diversidad del Bosque Atlántico Húmedo presentó los valores más altos de solubilidad mientras que la zona Sabana presentó los valores más bajos.

En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis de PH, existen diferencias altamente significativas ($P=0.0003^*$) entre las zonas evaluadas (Fig.3-8). El centro de diversidad del Bosque Atlántico Húmedo presentó los valores más bajos de PH ($\mu=22.4$). Mientras que la zona Sabana presentó los valores más altos ($\mu=27.7$). Si un almidón muestra un alto poder de hinchamiento y alta solubilidad esto refleja la baja fuerza de asociación en los gránulos. El poder de hinchamiento de los almidones de cereales es más limitado que el que se observa para los almidones de tubérculos. La capacidad de hinchamiento de los almidones depende directamente del tipo de almidón, lo que es mayor en almidones de tubérculos que con almidones de cereales, pero también depende de factores como el contenido de amilopectina, el tamaño y la forma de los gránulos. La solubilidad del almidón de yuca es alta, similar al del almidón de papa mientras que en los almidones de cereales se reduce debido a la presencia de lípidos (Aristizabal y Sanchez, 2007; Sanchez *et al.*, 2009; Sanchez *et al.*, 2010).

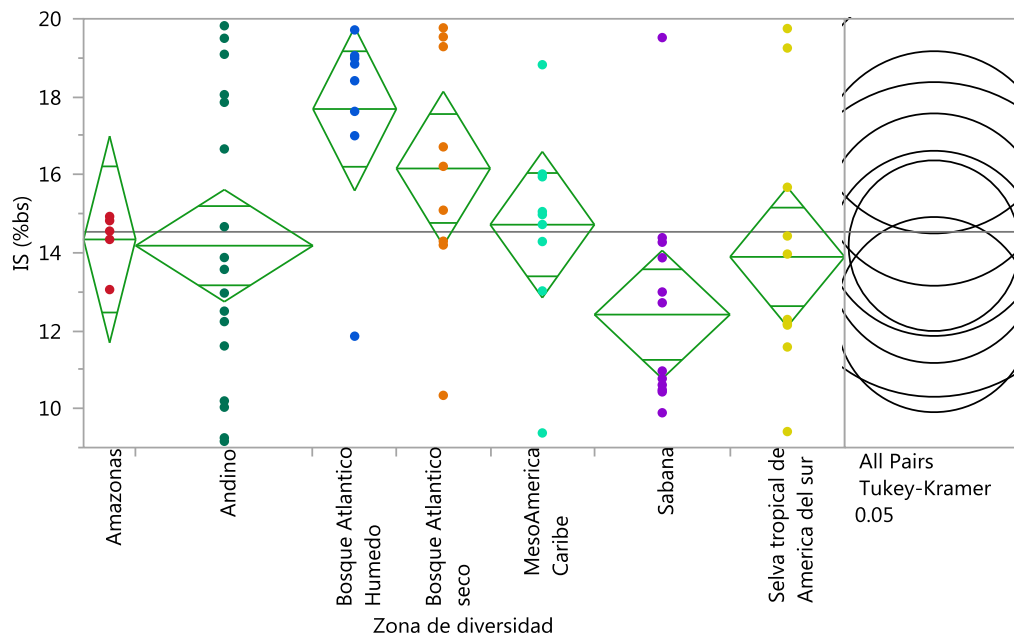


Figura 3-7: Análisis univariado para el parámetro IS (%bs) por cada zona de diversidad

Tabla 3-9: Resultados comparación de medias para el parámetro IS (%bs)

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Bosque Atlántico Húmedo	A	17.68	1.05	8
Bosque Atlántico seco	A B	16.16	0.99	9
Mesoamérica Caribe	A B	14.72	0.94	10
Amazonas	A B	14.34	1.32	5
Andino	A B	14.18	0.72	17
Selva tropical de América del sur	A B	13.89	0.89	11
Sabana	B	12.41	0.82	13

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintas.

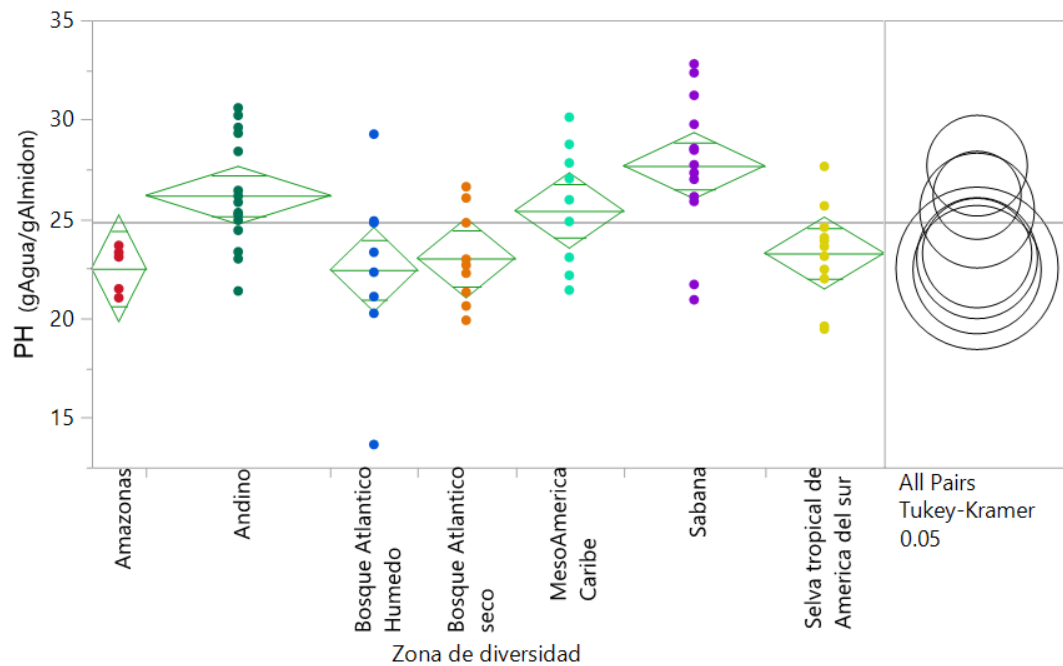


Figura 3-8: Análisis univariado para el parámetro PH (gAgua /gAlmidon)

Tabla 3-10: Resultados comparación de medias para el parámetro PH

Zona de diversidad		Media	DE	N° de genotipos
Sabana	A	27.67	0.83	13
Andino	A B	26.18	0.73	17
Mesoamérica Caribe	A B	25.41	0.95	10
Selva tropical de América del sur	B	23.27	0.91	11
Bosque Atlántico seco	B	23.01	1.00	9
Amazonas	B	22.51	1.34	5
Bosque Atlántico Húmedo	B	22.44	1.06	8

*Las zonas no conectadas por la misma letra son significativamente distintos.

El análisis de correlación de Pearson entre las variables estudiadas reportado en la tabla 3-11, reveló interacción entre Vmax con IS, cuyos coeficientes de correlación de Pearson fueron 0.5097 con $p < 0.0001$. También, se encontró correlación negativa entre IS y PH (-0.5724, $p < 0.0001$) y una alta correlación positiva entre Vmin y V final (0,2901, $p < 0.0001$).

Tabla 3-11: Correlación de Pearson para las variables de caracterización de los almidones

Parametros	V max (cP)	Amilosa (%)	Claridez (%)	IS (%bs)	PH (gAgua/gAlmidon)	TP (°C)	Vmin (cP)	Vfinal (cP)
Vmax (cP)	1.0000	-0.1965	0.3461	0.5097	-0.3048	-0.0332	0.2631	0.4028
Amilosa (%)		1.0000	-0.2206	-0.1862	0.0412	0.2868	0.0829	0.0735
Claridez (%)			1.0000	0.2267	0.2135	-0.0918	-0.2451	-0.1193
IS (%bs)				1.0000	-0.5724	0.2216	-0.1192	0.0030
PH (gAgua/gAlmidon)					1.0000	-0.2801	0.0480	0.0707
TP (°C)						1.0000	-0.0433	-0.0456
Vmin (cP)							1.0000	0.9417
Vfinal (cP)								1.0000

El contenido de azúcares y ácidos orgánicos encontrados en la harinas de yuca evaluadas, se reportó en la Tabla 3-12. En cuanto a los resultados para el contenido de azúcares, se encontró mayores concentraciones de glucosa, sucrosa y fructosa, mientras que la concentración de rafinosa fue la más baja. Los azúcares presentes en la yuca son sustratos importantes para la fermentación que contribuyen al sabor, color e influyen sobre la textura en la preparaciones de los alimentos (Johnson, Padmaja y Moorthy, 2009). Son el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno. La fructosa es metabolizada y guardada, en parte por el hígado en forma de glucógeno como reserva para situaciones de esfuerzo (Morales, Álvarez and Sánchez, 2008; Anyanwu *et al.*, 2015). En cuanto al perfil de ácidos orgánicos, se encontró mayor concentración de ácido cítrico, D_málico y succínico, mientras que se reportó una baja concentración de ácido oxálico, cisaconítico y fumarico. El ácido málico está implicado en el metabolismo y la derivación de la adenosina trifosfato (ATP), que desempeña un papel central en las tasas de producción de energía de todas las células en el cuerpo. El ácido succínico participa en la configuración del sabor salado, el ácido cítrico es el que transfiere propiedades gustativas de astringencia. La aplicación principal del ácido fumárico es como acidulante, éste

incrementa el poder de gelificantes (Sanchez *et al.*, 2013; Gu *et al.*, 2013; Zainuddin *et al.*, 2017)

Tabla 3.12: Parámetros de calidad de las harinas de yuca evaluadas.

Parametros	Valor mínimo	Valor máximo	Promedio	Desviación estándar
Rafinosa (mg/g)	0,00	6,20	3,05	1,09
Sucrosa (mg/g)	7,36	109,64	35,74	21,53
Glucosa (mg/g)	1,22	115,12	12,75	16,49
Fructosa (mg/g)	2,74	96,39	12,26	14,08
Acido Oxálico (mg/g)	0,36	3,99	0,72	0,51
Ácido CisAconítico (mg/g)	0,01	0,36	0,06	0,05
Ácido Cítrico (mg/g)	2,28	52,95	7,61	6,44
Ácido D_Malico (mg/g)	1,84	41,51	5,08	5,20
Ácido Trans-Aconítico (mg/g)	0,02	0,31	0,04	0,04
Ácido Succínico (mg/g)	0,05	25,59	5,13	2,94
Ácido Fumarico (mg/g)	0,00	0,41	0,20	0,09

3.4. Conclusiones

- ❖ Los genotipos de yuca clasificados en el centro de diversidad de Bosque Atlántico Húmedo presentaron alta V_{max} , IS y el más bajo PH. La zona de sabana se clasificó con más baja IS y los valores más altos de PH, V_{min} y V_{final} . Mientras que, los genotipos de la zona de Selva Tropical de América del sur presentaron la menor V_{max} , menor Claridez y mayor TP. La zona de Amazonas reportó los genotipos con más baja V_{min} y V_{final} pero el más alto porcentaje de claridez del gel. Finalmente, la zona Andina tuvo los genotipos con menor TP.
- ❖ Al caracterizar los 73 almidones de yuca obtuvimos que la V_{max} promedio fue de 881.34 cP y osciló de 486.65 cP a 1068.79 cP. La V_{min} promedio fue de 474.88 cP y osciló de 224.41 cP hasta 775.97 cP y la V_{final} promedio fue de 769.80 cP y osciló de 279.91 cP hasta 1128.97 cP. Mientras que la temperatura de empastamiento promedio de los 73 genotipos fue de 66.95°C y varió de 63.02°C a 70.07°C. El porcentaje de claridez osciló entre 44.55% y 69.05%

- ❖ El análisis de correlación de Pearson reveló interacción entre Vmax con IS, cuyos coeficientes de correlación fueron 0.5097 con $p < 0.0001$. También, se encontró correlación negativa entre IS y PH (-0.5724, $p < 0.0001$).
- ❖ En la caracterización de harinas de yuca se encontró mayor concentración de glucosa seguida por sacarosa y fructosa, mientras que la concentración de rafinosa fue baja. En cuanto al perfil de ácidos orgánicos, se encontró mayor concentración de ácido cítrico, D_malico y succínico, mientras que se reportó una baja concentración de ácido oxálico, cisaconítico y fumarico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Anyanwu, C. N. et al. (2015) 'Sustainability of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) as industrial feedstock, energy and food crop in Nigeria', *Renewable Energy*. Elsevier Ltd, 81, pp. 745–752. doi: 10.1016/j.renene.2015.03.075.

Aristizábal, J. y Sanchez, T. (2007) 'Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca'.

Brabet, C., Chuzel, G., Dufour, D., Raimbault, M., & Giraud, J. (1996). Improving cassava sour starch quality in Colombia. In: Dufour D; O'Brien GM; Best R, eds. *Cassava flour and starch: progress in research and development*. Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Département des Systèmes Agroalimentaires et Ruraux (CIRAD-SAR), Montpellier, France; CIAT, Cali, Colombia. p 241–246

Ceballos, H., Sánchez, T., Denyer, K., Tofiño, A.P., Rosero, E.A., Dufour, D., et al., (2008). Induction and identification of a small-granule, high-amylose mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008), pp. 7215-7222

Charles, A.L., Chang, Y., Koc, W., Srirothd, K., & Huange., T. (2004). Some Physical and Chemical Properties of Starch Isolates of Cassava Genotypes. *Starch/Stärke* . vol. 56. pg 413–418.

Codex Alimentarius, International Food Standards. Norma del Codex para la harina de yuca comestible. CODEX STAN 176-1989

Craig, S.A.S., Maningat, C.C., Seib, P.A. y Hosney, R.C. (1989). Starch Paste Clarity. *Cereal Chem.*, 66(3):173-182.

Defloor, I., Nys, M., & Delcour, J. A. (1993). Wheat starch, cassava starch, and cassava flour impairment of the bread making potential of wheat flour. *Cereal Chemistry*, 78, 525–530.

FAO (2000). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Defensa de la causa de la yuca. FAO: Rome, Italy, 2000. Disponible on-line: <http://www.fao.org/NOTICIAS/2000/000405-s.htm>

FAO (2007). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Comité del Codex sobre nutrición y alimentos para regímenes especiales. Sesión 29ª. FAO: Bad Neuenahr-Ahrweiler, 12 - 16 de noviembre de 2007. Disponible on-line: <ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCNFSDU/ccnfsdu29/nf2904as.pdf>

FAO (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Ahorrar para crecer: la yuca. Documento de orientación Guía a la intensificación sostenible de su producción. 24 pp. <http://www.fao.org/ag/save-and-grow/cassava/es/index.html>

Gu, B. et al. (2013) 'Change in physicochemical traits of cassava roots and starches associated with genotypes and environmental factors', *Starch/Staerke*, 65(3–4), pp. 253–263. doi: 10.1002/star.201200028.

Holloway, W.D., Argall, I.M.E., Jealous, W.T., Lee, J.A., Bradbury, J.H., 1989. Organic acids and calcium oxalate in tropical root crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37 (2), 337–341

Johnson, R., Padmaja, G. and Moorthy, S. N. (2009) 'Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier Ltd, 10(4), pp. 616–620. doi: 10.1016/j.ifset.2009.04.001.

Morales, S., Álvarez, H. and Sánchez, C. (2008) 'Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch', *Food and Bioproducts Processing*, 86(1), pp. 25–30. doi: 10.1016/j.fbp.2007.10.011.

Morante, N. et al. (2016) 'Discovery of new spontaneous sources of amylose-free cassava starch and analysis of their structure and techno-functional properties', *Food Hydrocolloids*, 56, pp. 383–395. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.12.025.

Ospina Patiño, Bernardo; Ceballos, Hernán; Alvarez, Elizabeth; Bellotti, Anthony C.; Calvert, Lee A.; Arias V., Bernardo; Cadavid López, Luis Fernando; Pineda López, Benjamín; Llano R., Germán Alberto; Cuervo Ibáñez, Maritza (eds.). 2002. La yuca en el Tercer Milenio : Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización . Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Consorcio Latinoamericano para la Investigación y el Desarrollo de la Yuca; Proyecto IP-3 de Mejoramiento de Yuca, Cali, CO. 586 p. (Publicación CIAT no. 327). Disponible On-line: http://books.google.com.co/books?id=l18Dz9sYZO8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Pasqualone, A., Caponioa, F., Summo, C., Paradiso, V.M., Botteg, G., & Pagani, M. (2010). Gluten-Free Bread Making Trials from Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Flour and Sensory Evaluation of the Final Product. *International Journal of Food Properties*. 13: 562–573.

Sanchez, T. et al. (2009) 'Screening of starch quality traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)', *Starch - Stärke*, 61(1), pp. 12–19. doi: 10.1002/star.200800058.

Sánchez, T., Dufour, D., Moreno, I.X., y Ceballos, H. (2010). Comparison of pasting and gel stabilities of waxy and normal starches from potato, maize, and rice with those of a novel waxy cassava starch under thermal, chemical, and mechanical stress', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), pp. 5093–5099. doi: 10.1021/jf1001606.

Sánchez, T. et al. (2013) 'Changes in extended shelf life of cassava roots during storage in ambient conditions', *Postharvest Biology and Technology*. Elsevier B.V., 86, pp. 520–528. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.07.014.

Sandoval, A., Farhat, I., & Fernandez, A. (2007). Rheological Modeling of Cassava (*Manihot Esculenta* Cranz) Starches And Flours During Extrusion Process. *Vitae* vol.14 no.1 Medellín Jan./June 2007.

Sciarini, S. L., Ribotta, D. P., León, E. A., & Pérez, T. G. (2008). Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*. doi:10.1007/s11947-008-0098-2

Seymour, R.B., y Carraher, C.E. (1995). *Introducción a la Química de Los Polímeros*. Ed.1. Barcelona.Reverté S.A Editorial. 742 pages. ISBN 8429179267

Zainuddin, I. M. et al. (2017) 'Cassava post-harvest physiological deterioration: From triggers to symptoms', *Postharvest Biology and Technology*. Elsevier, (September), pp. 0–1. doi: 10.1016/j.postharvbio.2017.09.004.

Capítulo 4

Identificación de regiones en el genoma de la yuca asociadas al contenido de cianuro empleando el método de GWAS

Resumen

El estudio de asociación de genoma completo (GWAS) se llevó a cabo para mapear loci de rasgos cuantitativos asociados con el contenido de cianuro en hojas y raíces de yuca un importante parámetro de calidad poscosecha, se utilizaron 236 genotipos de yuca con origen de diferentes países, una muestra representativa de la diversidad de germoplasma en la colección genética de CIAT. El contenido de HCN en las hojas varió de 538 ppm a 6181 ppm, para las raíces el contenido de HCN osciló 26 ppm a 1346 ppm. En el estudio de GWAS se llevó a cabo utilizando 69.132 marcadores SNP y múltiples elementos en MLM: modelo PCA + K en el software TASSEL. Se identificó una región genómica en el cromosoma 13 y 11 con cuatro SNPs significativamente asociados con el contenido de HCN. Una búsqueda en el genoma de la yuca ubicó estos SNPs en las cercanías de los genes Manes.13G079400, Manes.13G078400, Manes.13G084300, Manes.11G104200 y Manes.11G104100. Este estudio proporciona información sobre la aplicación práctica de GWAS para diseccionar la base genética de los rasgos cuantitativos en la yuca. Los hallazgos presentados aquí ofrecen una base práctica para mejorar el contenido de HCN en la yuca a través de la selección asistida por marcadores y la selección genómica.

Palabras claves: GWAS, Genes, Cromosomas, SNP, Yuca, Cianuro.

4.1. Introducción

En todo el mundo, la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) se ha cultivado como una importante fuente de alimentos y materia prima industrial desde que se desarrolló la agricultura (FAO, 2007). A medida que el tamaño de la población mundial se aproxima a los nueve mil millones, se proyecta que el cultivo de yuca será apto para satisfacer las crecientes demandas de calorías. La yuca se cultiva y se consume ampliamente en las regiones tropicales de África, Asia y América Latina, donde proporciona seguridad alimentaria familiar en comunidades agrícolas de escasos recursos (Monfreda *et al.*, 2008; Salvador *et al.*, 2014). Sin embargo, la naturaleza heterocigota intrínseca, los largos ciclos de reproducción y la alta sensibilidad a las variaciones ambientales hacen que la yuca sea un cultivo difícil de reproducir convencionalmente (Ceballos *et al.*, 2015).

Como cultivo cianogénico, la yuca tiene la capacidad de liberar cianuro de hidrógeno (HCN) durante el daño celular (Iglesias, Sánchez y Yeoh, 2002). La variación entre los cultivares en cuanto a su potencial cianogénico causa expectación sobre los posibles efectos perjudiciales sobre la salud. El contenido de HCN en la yuca es un rasgo cuantitativo (Dixon, Asiedu y Bokanga, 1994), dado que la reproducción convencional no ha sido efectiva con loci de rasgos cuantitativos (QTL) de baja heredabilidad, se espera que el mejoramiento molecular sea un método de mejoramiento eficiente (Collard *et al.*, 2005; Xinyou *et al.*, 2003).

No obstante, los avances recientes en las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) han hecho que el análisis de asociación del genoma basado en el desequilibrio de ligamiento (GWAS) sea una herramienta favorable para mapear rasgos complejos en plantas superiores (Davey *et al.*, 2011). Con más del 97% del genoma de la yuca secuenciado (Prochnik *et al.*, 2012), ahora es posible utilizar GWAS (Oliveira *et al.*, 2012) para anclar con precisión polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) vinculado a los rasgos de interés. De hecho, estas plataformas hacen que sea fácil inferir funciones de tales polimorfismos basados en anotaciones de las regiones genómicas donde están posicionadas. En este contexto, el objetivo de este estudio es identificar las regiones genómicas y los SNP vinculados a las variaciones naturales del contenido de HCN en genotipos de yuca.

4.2. Metodología

4.2.1. Genotipado de polimorfismo de nucleótido único (SNP)

El ADN genómico total se extrajo de las hojas de yuca recién expandidas de acuerdo con el procedimiento descrito por Doyle & Doyle, 1990. Se realizó secuenciación genética con metodología de RAD Sequencing en el Instituto de Genómica de Beijing (BGI), esta técnica consiste en la digestión de ADN genómico, de múltiples muestras de interés con enzimas de restricción seleccionadas, y adaptadores con etiquetas específicas de las muestras, con terminaciones salientes que corresponden al sitio de corte de la enzima de restricción, que son ligados a los fragmentos de restricción digeridos (Davey et al., 2013). Estos adaptadores son cortados a un tamaño adecuado (típicamente de 300-700pb) para secuenciación con Illumina mediante síntesis. Una vez obtenidas las secuencias, se utilizó el software NGSEP (Next Generation Sequencing Eclipse Plugin) (Cruz et al., 2014) para mapear las secuencias crudas de Illumina a la versión actualizada del genoma de referencia AM560-2 vs 6.1 (Prochnik et al., 2012) disponible en Cassava Genome HUB (<https://www.cassavagenome.org>), con el propósito de identificar SNPs entre los genomas en estudio y el genoma de referencia, generando un catálogo de variantes y obteniendo los genotipos correspondientes a cada muestra. La visualización gráfica de estos SNPs se realizó en el programa FLAPJACK (Milne et al., 2010). La herramienta TASSEL-GBS se utilizó para hacer SNP siguiendo los procedimientos bioinformáticos descritos en Elshire et al., 2011 y Glaubitz et al., 2014. Para eliminar sitios no segregados y no informativos, los datos imputados se filtraron adicionalmente en los siguientes umbrales: frecuencia de alelos minoritarios (MAF) = 0,01, recuento mínimo de genotipos = 50 y proporción heterocigota mínima = 0,01.

4.2.2. Estructura de la población

Para contabilizar los falsos positivos en GWAS, se investigó la estructura de la población en el panel utilizando el programa STRUCTURE (versión 2.3.4). La probabilidad de pertenencia para cada genotipo en una cantidad de subpoblaciones hipotéticas (k) se estimó utilizando marcadores de SNP. Las subpoblaciones 1-7 se probaron usando un modelo de mezcla. El programa se ejecutó por primera vez durante un período de burn-in de 100.000, mientras que las probabilidades posteriores se estimaron utilizando el método de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) con 100.000 repeticiones. El número más probable

de subpoblaciones se determinó usando el Δk (Evanno *et al.*, 2005). La estructura de la población se siguió investigando utilizando el análisis de coordenadas principales. La matriz de parentesco (K) se estimó en TASSEL y se usó como covariable para controlar los falsos positivos en el análisis del rasgo del marcador.

4.2.3. Análisis de asociación de elementos SNPs

Los estudios de asociación del rasgo-marcador se llevaron a cabo en la versión 4 de TASSEL (Bradbury *et al.*, 2007). En TASSEL, los modelos: GLM, GLM + Q, GLM + PCA, MLM + Q + K, MLM + PCA + K se probaron para descubrir asociaciones verdaderas de rasgo-marcador y garantizar la efectividad en el control de falsos positivos. Los resultados mostraron que los modelos GLM no eran lo suficientemente buenos para controlar los falsos positivos (datos no presentados), por tanto MLM + Q + K como MLM + PCA + K resultaron efectivos para encontrar asociaciones verdaderas. Además, los resultados de ambos modelos de MLM fueron similares, por lo tanto MLM + PCA + K se usó en el estudio actual. Los alelos de SNP <0,05 de frecuencia se trataron como alelos menores, por lo que se eliminaron del análisis las variantes raras que tenían alelos menores. Las variantes con > 10% de SNP faltantes también se descartaron del análisis. El pFDR ($q < 0.05$) se aplicó para probar la significación estadística de las comparaciones múltiples de todos los marcadores detectados según Storey, 2002. Los datos de salida incluyeron R^2 (% de variación fenotípica explicada por marcadores significativos), los efectos aditivos donde un valor positivo indica la presencia de alelos que potencian la asociación con el contenido de cianuro y un valor negativo indica la presencia de alelos que reducen la asociación con las variaciones en el contenido de cianuro. La secuencia de SNPs significativos se sometió a búsquedas BLAST, para anotar los genes predichos.

4.2.4. Modelo de mapeo de la asociación

Las evaluaciones del modelo de mapeo de asociación se basaron en el gráfico quantile-quantile (Q-Q plot), que es un gráfico de los valores observados de $-\log_{10} P$ frente a los valores esperados de $-\log_{10} P$ bajo la hipótesis nula de que no hay asociación entre un SNP y el fenotipo. El enfoque utilizado para identificar las señales de GWAS se basó por completo en los valores de P más pequeños obtenidos del MLM, donde los SNPs se clasificaron en función del orden ascendente de sus valores de P. Los SNPs con valores

de P inferiores al umbral de Bonferroni al 5% se consideraron significativamente asociados con los fenotipos. Además, las señales de asociación de los cromosomas se visualizaron a partir de gráficos de Manhattan generados utilizando *qqman* en el paquete de software R (Turner, 2014). Se examinó la secuencia del genoma de referencia de yuca utilizando cassava genome Hub para buscar genes modelo en las proximidades de SNPs significativos. Para superar los problemas de no colinealidad que pueden existir dentro de esta versión del genoma (dado que solo está parcialmente completa), se consideraron intervalos más amplios (hasta 0,5 Mb) mientras se buscaban genes de vía en las cercanías de SNPs que mostraran asociaciones significativas.

4.3. Resultados y Discusión

En el análisis de MLM para HCN, se detectó una fuerte señal de GWAS (Fig.4-1) y el análisis de los cromosomas mapeó la señal en el cromosoma 13 y 11 del genoma de la yuca (Fig.4-2). Dentro de esos picos, cuatro SNPs tenían P valores menores que el 5% del umbral de Bonferroni de significancia de todo el genoma. Los análisis de MLM indicaron el más alto $-\log_{10}(P)$ para el marcador S13_12562917 ($P=7.86E-12$) seguido del marcador S13_12290459 ($P=5.66E-10$). Estos dos SNPs representaron la mayor varianza fenotípica (9%) para HCN (Tabla 4-1).

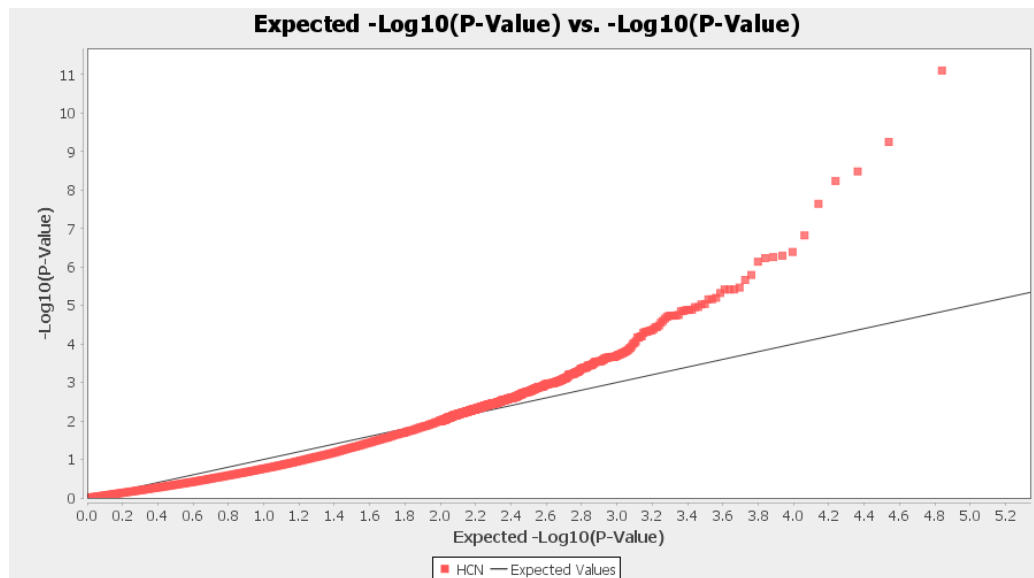


Figura. 4-1: Diagramas de quantile-quantile (QQplot) para el diagnóstico de señales de asociación basadas en las mejores predicciones lineales e imparciales para el contenido total de HCN

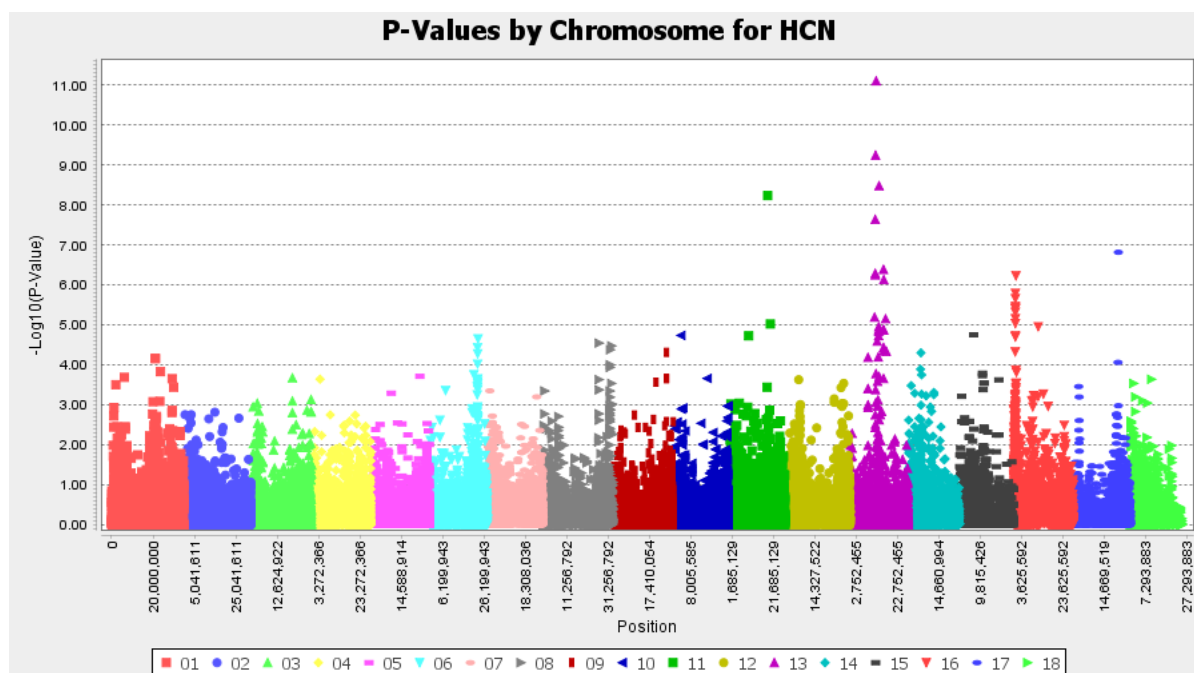


Figura. 4-2: Gráfico de Manhattan para el diagnóstico genómico de las señales de asociación que se basan en las mejores predicciones lineales no sesgadas para el contenido total de HCN.

Tabla 4-1: Lista de SNPs con significado de asociación al genoma de yuca para el contenido de HCN

SNP	Ch ^a	Posición ^b	P (valor)	EA ^d	ED ^e	R ^{2c}	Gen	Anotación del gen ^f
S13_12562917	13	12562917	7.86E-12	-2.26E+02	139.44	0.078	Manes.13G079400	uncharacterized protein At5g08430
S13_12290459	13	12290459	5.66E-10	-2.31E+02	24.65	0.060	Manes.13G078400	Eukaryotic aspartyl protease family protein
S13_13997583	13	13997583	3.27E-09	-2.16E+02	-6.88E+01	0.056	Manes.13G084300	actin-7 [Manihot esculenta (cassava)]
S11_18989037	11	18989037	5.77E-09	310.15	-2.80E+02	0.077	Manes.11G104200	uncharacterized LOC110625851
S13_12118062	13	12118062	2.27E-08	181.47	50.91997	0.059	Manes.11G104100	wall-associated receptor kinase 2-like [Manihot esculenta (cassava)]

^a Cromosoma

^b Ubicación del SNP en el cromosoma en la secuencia del genoma de la yuca

^c Proporción de la variación del rasgo genético explicada por los SNP

^d Efecto aditivos

^e Efecto dominante

^f Anotación del gen usando búsqueda en BLAST en Cassava genome HUB

Tabla 4-2: Descripción de los posibles genes encontrados.

Gen	Anotación del gen usando BLAST	Longitud	Locación
Manes.13G079400	Uncharacterized protein At5g08430	15071 bp	[12,568,887 -> 12,585,057] (44.7 centisomes)
Manes.13G078400	Eukaryotic aspartyl protease family protein	1404 bp / 467 aa	[12,290,137 -> 12,291,540] (43.71 centisomes)
Manes.13G084300	actin-7 [Manihot esculenta]	1392 bp / 463 aa	[13,968,804 -> 13,970,195] (49.68 centisomes)
Manes.11G104200	uncharacterized LOC110625851	502 bp	[18,990,096 -> 18,990,597] (69.39 centisomes)
Manes.11G104100	wall-associated receptor kinase 2 [Manihot esculenta]	3951 bp / 1316 aa	[18,985,862 -> 18,989,812] (69.37 centisomes)

Se hizo referencia a la secuencia del genoma de la yuca en Cassava genoma Hub para identificar genes anotados a una distancia de ± 0.5 Mb de la región genómica ocupada por los SNP significativos (Tabla 4-1 y 4-2). La producción agrícola en todo el mundo está siendo desafiada por un rápido crecimiento de la población humana, tierras cultivables limitadas y cambios climáticos adversos, que requieren mayores esfuerzos para optimizar el uso de los recursos disponibles necesarios para equilibrar el aumento de la producción de alimentos con efectos ambientales reducidos. Por su parte, los mejoradores de plantas podrían beneficiarse de la aplicación de herramientas genómicas avanzadas para descubrir y usar variaciones genéticas funcionales para mejorar los cultivos (Moose y Mumm 2008). Afortunadamente, existen diversos recursos genéticos de yuca en los trópicos para rasgos económicamente importantes (Nassar 2003; Nassar *et al.*, 2007). Dicha variación genética útil podría explorarse a través de GWAS para aislar y mejorar los rasgos de importancia agrícola en un cultivo que ciertamente proporcionará alimento a esta población humana en rápido crecimiento (Ceballos *et al.*, 2015). En consecuencia, este estudio se centró en el contenido de HCN. Una prueba de GWAS con 69.132 marcadores de SNP y 236 genotipos de yuca se realizó con el fin de comprender las causas genéticas de la variación natural del contenido de HCN en la yuca. Tal conocimiento proporcionaría un marco para emprender una mejora genética más sistemática de la yuca para disminuir los niveles de contenido de HCN en las raíces y hojas.

La naturaleza heterocigota y el gran tamaño del genoma de la yuca son factores importantes a tener en cuenta al aplicar las tecnologías NGS para estudiar el cultivo (Oliveira *et al.*, 2012; Ceballos *et al.*, 2015). La secuenciación del genoma de la yuca tiene aproximadamente 582.25 Mb de longitud con un total de 33.033 loci que contienen transcripciones codificantes de proteínas dispuestas en 18 cromosomas (Goodstein *et al.*, 2012; Prochnik *et al.*, 2012).

4.4. Conclusiones

En conclusión, este estudio fue uno de los esfuerzos pioneros para aplicar las tecnologías NGS para dilucidar la genética de la yuca a nivel molecular y ha demostrado que GWAS es una poderosa herramienta para desentrañar factores genéticos relacionados con variaciones naturales de caracteres importantes en la yuca. El GWAS identificó cuatro SNPs fuertemente vinculados al contenido de HCN en la yuca, ubicado en las cercanías de los genes Manes.13G079400, Manes.13G078400, Manes.13G084300, Manes.11G104200 y Manes.11G104100. Estos SNPs podrían proporcionar una visión refinada de la arquitectura genética del contenido de HCN y ofrecer una base práctica para el desarrollo de variedades de yuca con bajos niveles de HCN. Sin embargo, se requieren esfuerzos adicionales para secuenciar la región genómica que contiene la señal de asociación significativa con el fin de descubrir información de secuencia útil que puede apuntalar las funciones metabólicas de los SNPs asociados con respecto a la acumulación de HCN en raíces de yuca.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES (2007) TASSEL: software para mapeo asociativo de rasgos complejos en diversas muestras. *Bioinformatics* 23: 2633-2635

Ceballos H, Kawuki RS, Gracen VE, Yencho GC, Hershey CH (2015) Crianza convencional, selección asistida por marcadores, selección genómica y endogamia en cultivos propagados clonalmente: un estudio de caso para la yuca. *Theor Appl Genet* 128: 1647-1667

Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK: una introducción a los marcadores, el mapeo de loci de rasgos cuantitativos (QTL) y la selección asistida por marcadores para la mejora de cultivos: los conceptos básicos. *Euphytica*. 2005, 142: 169-196. 10.1007 / s10681-005-1681-5.

Davey JW, Hohenlohe PA, Etter PD, Boone JQ, Catchen JM, Blaxter ML (2011) Genoma de todo el gen marcador de descubrimiento y genotipo usando la secuenciación de nueva generación. *Nat Rev Genet* 12: 499-510

Dellaporta S, Wood J, Hicks J (1983) Una minipreparación de DNA de plantas: versión II. *Plant Mol Biol Rep* 1: 19-21

Dixon AGO, Asiedu R, Bokanga M: Reproducción de mandioca por bajo potencial cianogénico: problemas, progreso y perspectivas. *Acta Hort.* 1994, 375: 153 - 161.C CrossRef

Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Polonia JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE (2011) Un enfoque robusto y simple de genotipado por secuenciación (GBS) para especies de alta diversidad. *PLoS One* 6: e19379

Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611e2620.

FAO, (2007). Perspectivas alimentarias. Perspectivas alimentarias. 2007, Departamento de Desarrollo Económico y Social. Disponible on line: www.fao.org/docrep/010/ah864s/ah864s10.htm

Glaubitz JC, Casstevens TM, Lu F, Harriman J, Elshire RJ, Sun Q, Buckler ES (2014) TASSEL-GBS: un genotipado de alta capacidad mediante la secuenciación de análisis. *PLoS One* 9: e90346

Goodstein DM, Shu S, Howson R y otros (2012) Phytozome: una plataforma comparativa para la genómica de plantas verdes. *Nucleic Acids Res* 40: 1178-1186

Iglesias CA, Sánchez T, Yeoh HH: actividades de cianogenas y linamarasas en las raíces de almacenamiento de las plantas de yuca del programa de mejoramiento. *J Food Compos Anal.* 2002, 15: 379 - 387. 10.1006 / jfca.2002.1079.

Monfreda C, Ramankutty N, Foley JA (2008) Cultivo del planeta: distribución geográfica de las áreas de cultivo, rendimientos, tipos fisiológicos y producción primaria neta en el año 2000. *Global Biogeochem Cycles* 22: 1-19

Moose SP, Mumm RH (2008) Mejora de plantas moleculares como la base para la mejora de cultivos del siglo XXI. *Plant Physiol* 147: 969-977

Nassar NMA (2003) Cassava, *Manihot esculenta* Crantz recursos genéticos: anatomía de un centro de diversidad. *Genet Mol Res* 2: 214-222

Nassar NMA, Schwartz CA, OP Junior (2007) Diversidad de yuca en Brasil: el caso de las variedades locales ricas en HCN. *Genet Mol Res* 6: 116-121

Oliveira EJ, Resende MDV, Silva Santos V et al. (2012) Selección genómica en yuca. *Euphytica* 187: 263-276

Peterson G, Dong Y, Horbach C, Fu YB (2014) Genotipificación por secuenciación para el análisis de la diversidad genética vegetal: una guía de laboratorio para el genotipado de SNP. *Diversidad* 6: 665-680

Prochnik S, Marri PR, Desany B et al (2012) El genoma de la yuca: progreso actual, direcciones futuras. *Trop Plant Biol* 5: 88-94

Salvador EM, Steenkamp V, McCrindle CME (2014) Producción, consumo y valor nutricional de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en Mozambique: una visión general. *J Agric Biotechnol Sustain Dev* 6: 29-38

Storey, J.D., 2002. A direct approach to false discovery rates. *J. R. Stat. Soc. B* 64 (3), 479e498.

Turner SD (2014) qqman: un paquete R para visualizar resultados de GWAS usando diagramas de QQ y Manhattan. <http://dx.doi.org.ezproxy.unal.edu.co/10.1101/005165> . Consultado el 12 de junio de 2014

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones generales

- ❖ El estudio permitió identificar y seleccionar 10 genotipos de yuca de óptima calidad pos cosecha porque cumplen con los criterios de preferencia de los consumidores y las exigencias del mercado, ya que presentaron un bajo contenido de HCN menor a 200 ppm, alto contenido de MS 35% al 42%. También, presentaron buena calidad culinaria con un tiempo de cocción menor a 25 minutos y un índice de DFP menor al 12%. Estos genotipos permitirán iniciar programas de mejoramiento genético

- ❖ De la caracterización de los siete centros de domesticación por parámetros de calidad poscosecha en hojas, raíces, almidones y harinas, se concluyó:
 - A) En la zona de Amazonas se agruparon los genotipos de yuca con mayor contenido de HCN en raíces y hojas, presentaron mayor tiempo de cocción, alta susceptibilidad al DFP, también tuvieron mayor contenido de carotenos en hojas, y sus almidones presentaron mayor claridez del gel, y menor V_{min} y V_{final} .
 - B) La zona Andina presentó los genotipos con más bajo contenido de HCN en hojas y raíces, corto tiempo de cocción, alta susceptibilidad al DFP y los almidones presentaron la más baja temperatura de empastamiento.
 - C) La zona Sabana agrupó los genotipos con más alto %MS, bajo HCN, largo tiempo de cocción y la mayor susceptibilidad al DFP. Sus almidones presentaron valores altos de V_{min} , V_{final} , bajo IS y alto PH.
 - D) La zona de Bosque Atlántico Seco presentó genotipos de yuca con bajo contenido de HCN, largo tiempo de cocción y alta susceptibilidad al DFP.

- E) La zona de Bosque Atlántico Húmedo agrupó genotipos de yuca con alto contenido de HCN en hojas y raíces, largo tiempo de cocción y la más baja susceptibilidad al DFP, mientras que sus almidones presentaron alta V_{max} , alto IS y bajo PH.
- F) La zona Mesoamérica Caribe tuvo los genotipos de yuca con bajo contenido de HCN, largo tiempo de cocción, alta susceptibilidad al DFP y alto contenido de MS, bajo contenido de carotenos en sus hojas.
- G) La zona Selva tropical de América del sur presentó los genotipos con alto contenido de HCN, alta MS, largo tiempo de cocción, susceptibilidad al DFP y sus almidones tuvieron bajo IS, alto PH, V_{min} y V_{final} .
- ❖ Se estableció una escala de relación entre tiempo de cocción y la firmeza de yuca cocinadas donde los genotipos que tuvieron un tiempo óptimo de cocción menor a 20 min y presentaron firmeza menor a 2000g, genotipos que presentaron tiempo de cocción intermedios de 20 a 30 min presentaron firmeza entre 2000g a 4000g, y los genotipos de largo tiempo de cocción mayor a 40 minutos y presentaron firmeza de 5000 g en adelante.
- ❖ Este estudio fue uno de los esfuerzos pioneros para aplicar las tecnologías NGS para dilucidar la genética de la yuca a nivel molecular y ha demostrado que GWAS es una poderosa herramienta para desentrañar factores genéticos relacionados con variaciones naturales de caracteres importantes en la yuca. El GWAS identificó 69.132 SNPs con respecto al genoma de referencia AM560-2 y relacionó las características genotípicas con las fenotípicas de 236 genotipos de yuca. Se obtuvo que cuatro SNPs están fuertemente vinculados al contenido de HCN en la yuca, ubicado en las cercanías de los genes Manes.13G079400, Manes.13G078400, Manes.13G084300, Manes.11G104200 y Manes.11G104100 en los cromosomas 11 y 13. Estos SNPs podrían proporcionar una visión refinada de la arquitectura genética del contenido de HCN y ofrecer una base práctica para el desarrollo de variedades de yuca con bajos niveles de HCN. Sin embargo, se requieren esfuerzos adicionales para secuenciar la región genómica que contiene la señal de asociación significativa con el fin de descubrir información de secuencia útil que puede apuntalar las funciones metabólicas de los SNPs asociados con respecto a la acumulación de HCN en raíces de yuca.

5.2. Recomendaciones

- ❖ Se recomienda utilizar los 10 genotipos identificados con óptimos parámetros pos cosecha para continuar con programas de mejoramiento genético para direccionar cruzamientos con el objetivo de mejorar clones con mayor contenido nutricional, y mejores características agronómicas e industriales.

- ❖ Se recomienda continuar con estudios que tiendan a la confirmación sobre rutas metabólicas y proteómicas que están inmersas en el parámetro contenido de cianuro.

Anexo A: Resultados del análisis de GWAS

Tabla A. Resultados del análisis de GWAS

N°	SNP	Ch	Posicion	P (Valor)	add_effect	dom_effect	R ²
1	S13_12562917	13	12562917	7.86E-12	-2.26E+02	139.44424	0.07798
2	S13_12290459	13	12290459	5.66E-10	-2.31E+02	24.65472	0.06035
3	S13_13997583	13	13997583	3.27E-09	-2.16E+02	-6.88E+01	0.05631
4	S11_18989037	11	18989037	5.77E-09	310.14741	-2.80E+02	0.0775
5	S13_12118062	13	12118062	2.27E-08	181.47455	50.91997	0.05866
6	S17_21671426	17	21671426	1.51E-07	-1.08E+02	477.1329	0.04254
7	S13_16127575	13	16127575	4.06E-07	-2.11E+02	-1.25E+02	0.03946
8	S13_12146844	13	12146844	5.09E-07	-1.82E+02	14.13958	0.04267
9	S13_12118031	13	12118031	5.55E-07	185.89607	-7.88E+00	0.04082
10	S16_1074579	16	1074579	5.86E-07	132.59178	-5.96E+01	0.04357
11	S13_16258952	13	16258952	7.28E-07	-2.30E+02	-8.24E+01	0.0392
12	S16_802491	16	802491	1.61E-06	155.30931	37.67186	0.03577
13	S16_796681	16	796681	2.17E-06	-1.77E+02	-3.50E+01	0.03491
14	S16_801876	16	801876	3.42E-06	-1.65E+02	13.86561	0.03363
15	S16_805081	16	805081	3.83E-06	-1.72E+02	26.70178	0.04745
16	S16_805083	16	805083	3.83E-06	172.37179	26.70178	0.04745
17	S16_805085	16	805085	3.83E-06	172.37179	26.70178	0.04745
18	S16_796716	16	796716	4.73E-06	170.08486	-2.72E+01	0.03278
19	S13_11832161	13	11832161	6.32E-06	-2.16E+02	-1.79E+02	0.03525
20	S16_805124	16	805124	6.89E-06	168.14722	10.23767	0.04317
21	S13_17127291	13	17127291	6.93E-06	224.49259	-1.02E+02	0.03195
22	S16_805069	16	805069	9.14E-06	-1.66E+02	29.71118	0.04406
23	S11_20290701	11	20290701	9.34E-06	191.8261	-3.13E+01	0.03263
24	S13_13796214	13	13796214	1.10E-05	174.14808	-6.64E+01	0.03412
25	S16_11840227	16	11840227	1.10E-05	145.5281	77.80812	0.03314
26	S13_13774858	13	13774858	1.29E-05	212.25902	-1.14E+02	0.04816
27	S13_16149072	13	16149072	1.31E-05	-2.16E+02	-1.37E+02	0.03042
28	S13_16149079	13	16149079	1.31E-05	215.68694	-1.37E+02	0.03042
29	S13_14016790	13	14016790	1.38E-05	-1.53E+02	6.03769	0.03015
30	S13_13774867	13	13774867	1.42E-05	-2.12E+02	-1.14E+02	0.04805

Tabla A. Resultados del análisis de GWAS (continuación)

N	SNP	Ch	Posicion	P (Valor)	add_effect	dom_effect	R ²
31	S15_6775351	15	6775351	1.75E-05	-2.49E+02	-4.18E+01	0.02919
32	S10_3363622	10	3363622	1.81E-05	245.81159	-1.56E+02	0.03008
33	S13_13769766	13	13769766	1.83E-05	-1.32E+02	83.34588	0.0293
34	S16_805120	16	805120	1.84E-05	163.28021	41.08039	0.03905
35	S11_9834102	11	9834102	1.86E-05	143.92087	-1.40E+02	0.03177
36	S16_805099	16	805099	1.96E-05	136.88023	123.4891	0.03883
37	S06_23452956	6	23452956	2.21E-05	-7.89E+01	194.94737	0.03144
38	S13_13074897	13	13074897	2.52E-05	156.19865	-4.48E+01	0.02851
39	S08_27136682	8	27136682	2.81E-05	119.38759	-8.94E+01	0.02827
40	S08_33211663	8	33211663	3.31E-05	279.36598	-1.90E+02	0.03649
41	S13_16164337	13	16164337	3.63E-05	204.77442	-8.26E+01	0.0277
42	S06_23199288	6	23199288	3.68E-05	137.35895	63.55212	0.02722
43	S08_32576846	8	32576846	4.13E-05	-1.90E+02	-4.66E+01	0.02787
44	S13_16222591	13	16222591	4.40E-05	169.70807	-1.34E+01	0.02676
45	S13_17420829	13	17420829	4.47E-05	-1.89E+02	-4.55E+01	0.02682
46	S16_732199	16	732199	4.67E-05	-1.29E+02	-1.76E+01	0.0282
47	S09_25808154	9	25808154	4.81E-05	NaN	NaN	0.02193
48	S14_6139494	14	6139494	4.93E-05	-2.03E+02	-1.64E+02	0.02639
49	S06_23254226	6	23254226	5.20E-05	-1.59E+02	39.1068	0.02627
50	S13_13606865	13	13606865	6.27E-05	147.33759	-1.93E+01	0.02602
51	S13_8622450	13	8622450	6.41E-05	-1.24E+02	35.60551	0.02598
52	S01_21144169	1	21144169	6.82E-05	181.24678	-1.05E+02	0.02558
53	S01_21144170	1	21144170	6.82E-05	-1.81E+02	-1.05E+02	0.02558
54	S17_21488385	17	21488385	8.54E-05	199.92173	-1.58E+02	0.03
55	S06_23208001	6	23208001	9.43E-05	-1.59E+02	34.32149	0.02464
56	S08_32494042	8	32494042	9.82E-05	-1.31E+02	99.21908	0.02468
57	S08_32494150	8	32494150	1.14E-04	-1.95E+02	-5.52E+01	0.02415
58	S14_5949864	14	5949864	1.27E-04	-2.20E+02	-1.27E+02	0.02745
59	S16_1008800	16	1008800	1.33E-04	97.34309	23.49227	0.02842
60	S01_23666378	1	23666378	1.46E-04	-3.11E+02	-3.46E+02	0.02345
61	S16_1311249	16	1311249	1.52E-04	90.24739	60.71234	0.02347
62	S15_11044258	15	11044258	1.59E-04	332.71568	-3.10E+02	0.02339
63	S13_12477891	13	12477891	1.64E-04	-1.38E+02	43.56683	0.02358
64	S06_21437570	6	21437570	1.73E-04	120.35672	-5.30E+01	0.02301
65	S14_6470624	14	6470624	1.75E-04	194.03793	-1.51E+02	0.02336
66	S15_11044262	15	11044262	1.84E-04	-3.30E+02	-3.14E+02	0.023
67	S05_23631740	5	23631740	1.91E-04	181.0721	-1.57E+02	0.02608
68	S13_13997687	13	13997687	1.92E-04	-1.13E+02	-6.52E+01	0.02934

Anexo B: Resultados análisis de varianzas

Análisis de varianza de Materia seca (%) en raíces de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	554,8754	92,4792	8,2506	<,0001*
Error	230	2578,0360	11,2089		
C. Total	236	3132,9114			

Análisis de varianza de DFP (%) en raíces de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	5356,367	892,728	1,7282	0,0044
Error	154	79551,620	516,569		
C. Total	160	84907,988			

Análisis de varianza de HCN (ppm) en raíces de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona diversidad	6	10603896	1767316	66,7656	<,0001*
Error	215	5691144	26470		
C. Total	221	16295040			

Análisis de varianza de Tiempo óptimo de cocción (min) en raíces de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	7729,225	1288,20	7,1323	<,0001*
Error	199	35942,697	180,62		
C. Total	205	43671,922			

Análisis de varianza de HCN (ppm) en hojas de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	30136296	5022716	4,2066	0,0008*
Error	105	125371998	1194019		
C. Total	111	155508294			

Análisis de varianza de all-trans- β -carotenos ($\mu\text{g/g}$) en hojas de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	116646,71	19441,1	3,3805	0,0044*
Error	105	603846,09	5750,9		
C. Total	111	720492,80			

Análisis de varianza de carotenos totales ($\mu\text{g/g}$) en hojas de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	128590,0	21431,7	1,5438	0,1712
Error	105	1457689,3	13882,8		
C. Total	111	1586279,3			

Análisis de varianza de Vmax (cP) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	250162.4	41693.7	3.0540	0.0107*
Error	66	901032.2	13652.0		
C. Total	72	1151194.5			

Análisis de varianza de Vmin (cP) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	140032.02	23338.7	5.6964	<.0001*
Error	66	270408.30	4097.1		
C. Total	72	410440.32			

Análisis de varianza de Vfinal (cP) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	558269.4	93044.9	8.6142	<.0001*
Error	66	712886.1	10801.3		
C. Total	72	1271155.5			

Análisis de varianza de TP (°C) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	23.92134	3.98689	2.2636	0.0478*
Error	66	116.24725	1.76132		
C. Total	72	140.16859			

Análisis de varianza de contenido de amilosa (%) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	10.69061	1.78177	0.4106	0.8695
Error	66	286.43490	4.33992		
C. Total	72	297.12551			

Análisis de varianza de claridez del gel (%) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	530.2610	88.3768	4.7039	0.0005*
Error	66	1240.0020	18.7879		
C. Total	72	1770.2630			

Análisis de varianza de IS (%) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	168.99380	28.1656	3.1959	0.0082*
Error	66	581.67004	8.8132		
C. Total	72	750.66383			

Análisis de varianza de PH (g/g) en almidón de yuca

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de los cuadrados	Razón F	Prob > F
Zona de diversidad	6	268.06185	44.6770	4.9447	0.0003*
Error	66	596.33440	9.0354		
C. Total	72	864.39625			