

Caracterización morfoagronómica y molecular de la colección de cacao de la Federación Nacional de Cacaoteros de Colombia

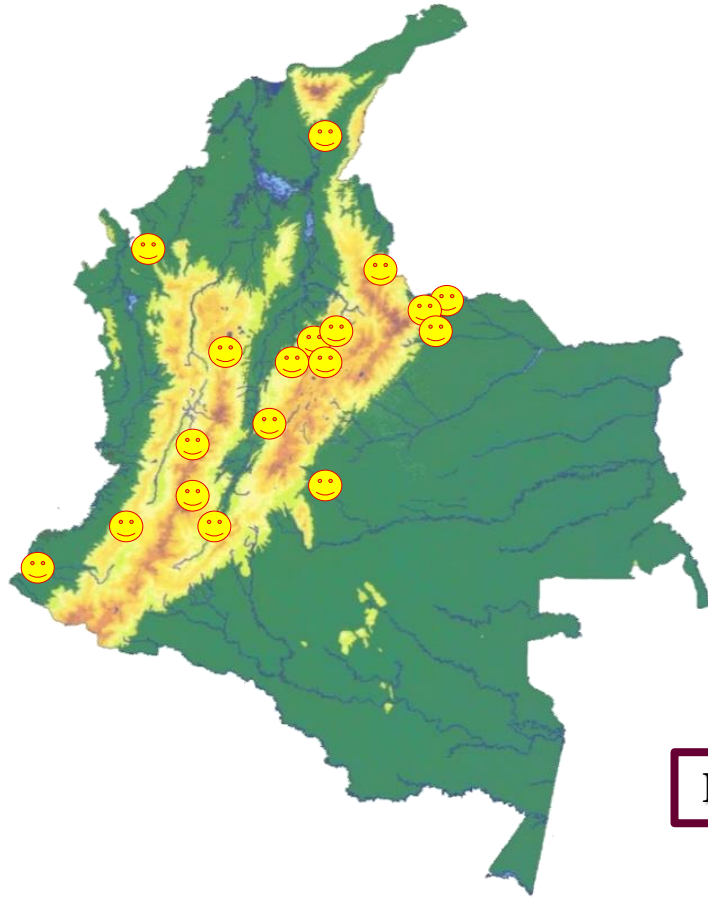
Nubia Martínez Guerrero¹, Gerardo Gallego², Patricia Zapata², Constanza Quintero², Diannefair Duarte¹, Joe Tohme², Oscar Darío Ramírez¹

1. Departamento de Investigación. Federación Nacional de Cacaoteros
2. Centro Internacional de Agricultura Tropical

Lima, Noviembre de 2017



Colombia



Año 2000 clonación



Incrementar la producción y productividad



Proyectos de evaluación de genotipos internacionales



Selección de nuevos genotipos regionales como estrategia de aprovechamiento de la diversidad genética



Evaluación y caracterización de la colección de materiales promisorios

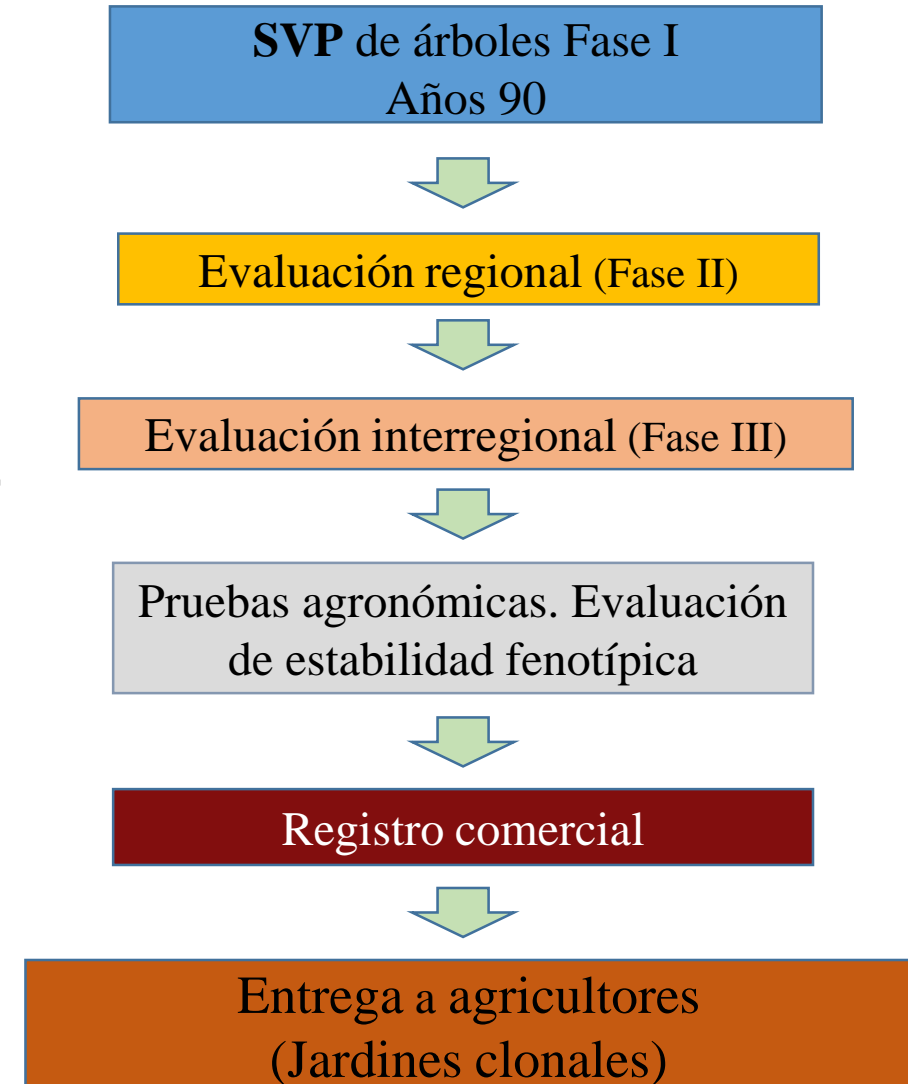
Caracterizar la diversidad genética de 71 genotipos mediante SNP's y evaluar las características morfoagronómicas de 42 genotipos de la colección de FEDECACAO

Mejoramiento genético de Fedecacao

Caracterización:

- Morfológica
- Agronómica (Componentes de rendimiento)
- Compatibilidad sexual
- Respuesta a enfermedades principales
- Física y química (Grano)
- Sensorial
- Molecular

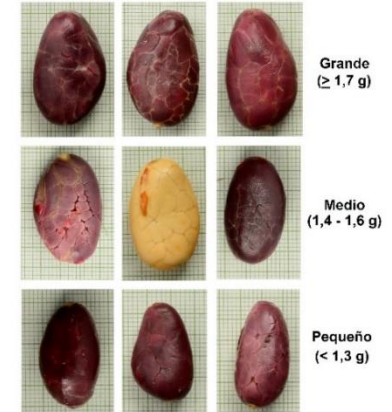
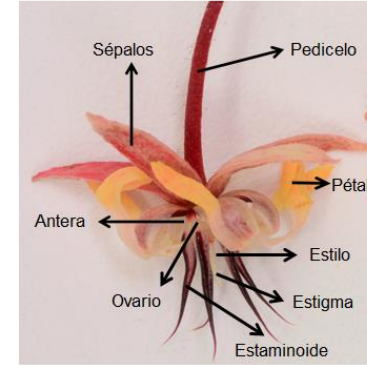
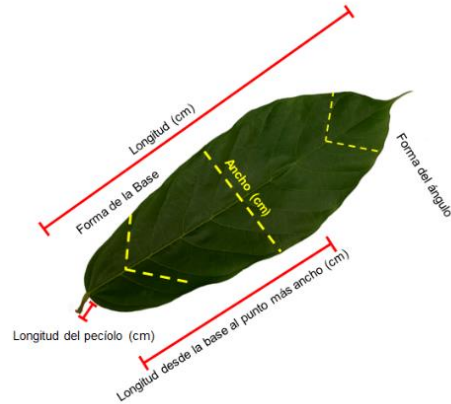
**Resolución 5547 ICA. Diciembre de 2013,
Registro de la Unidad de Investigación en
Fitomejoramiento para Cacao**



Metodología

Caracterización morfológica

San Vicente de Chucurí, 900 msnm., 1.800 mm, 80% HR, 42 genotipos



Fruto: 19 descriptores

Hoja: 11 descriptores

Flor: 15 descriptores

Grano: 10 descriptores

El cacaocultor es lo primero

Caracterización molecular

Hojas juveniles y adultas de 71 genotipos de cacao San Vicente de Chucurí, Santander y Miranda, Cauca;. Colección FEDECACAO

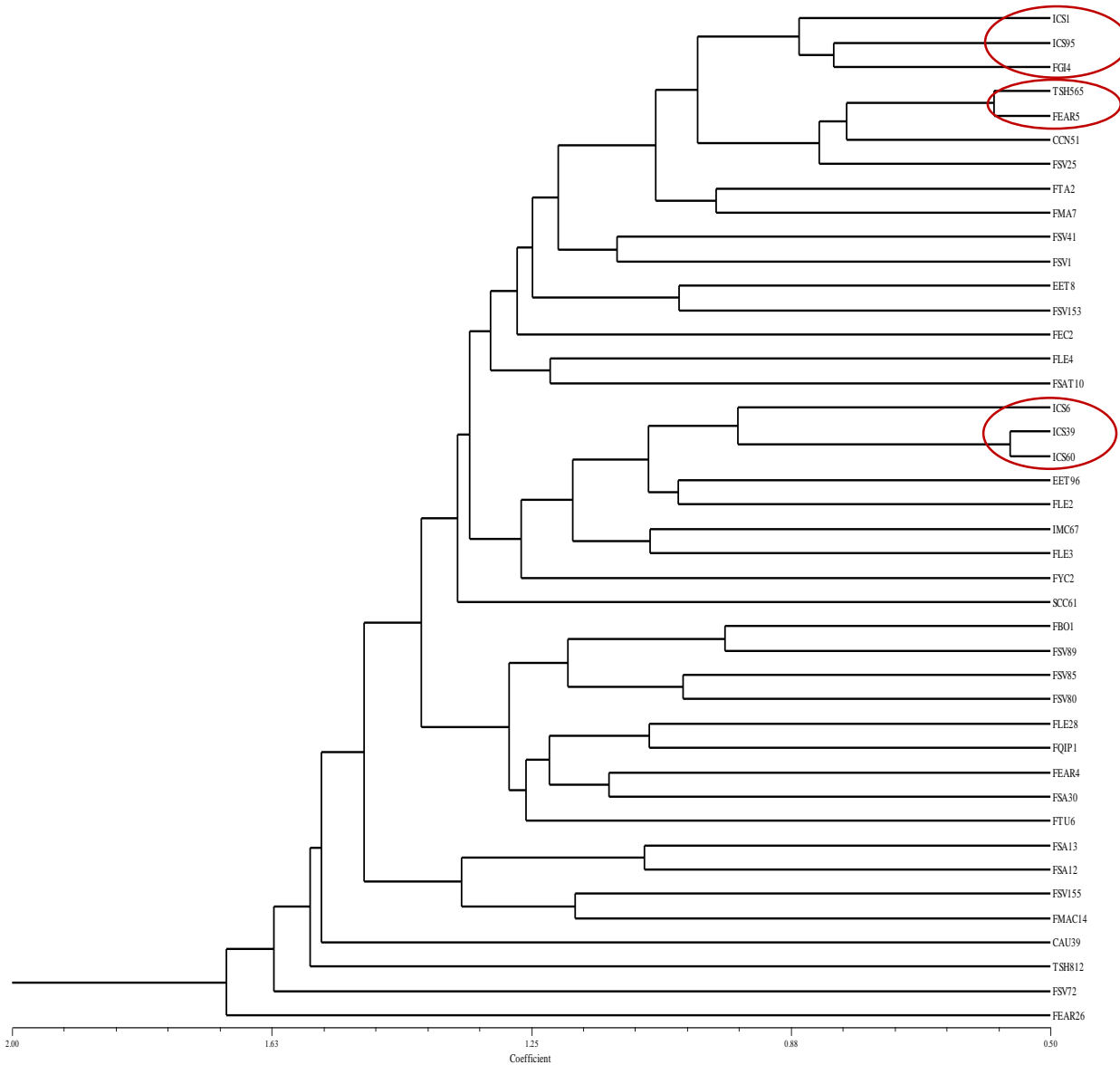
Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Tejidos del Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT -. Extracción de ADN, método de Michiels *et al.* (2003), modificado por Zapata (2016)

Genotificación en plataforma *Fluidigm EPI System*. Un conjunto de 96 SNPs (Illic *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2013; Ruiz *et al.*, 2004) distribuidos a lo largo de los diez cromosomas del cacao para establecer los perfiles genéticos



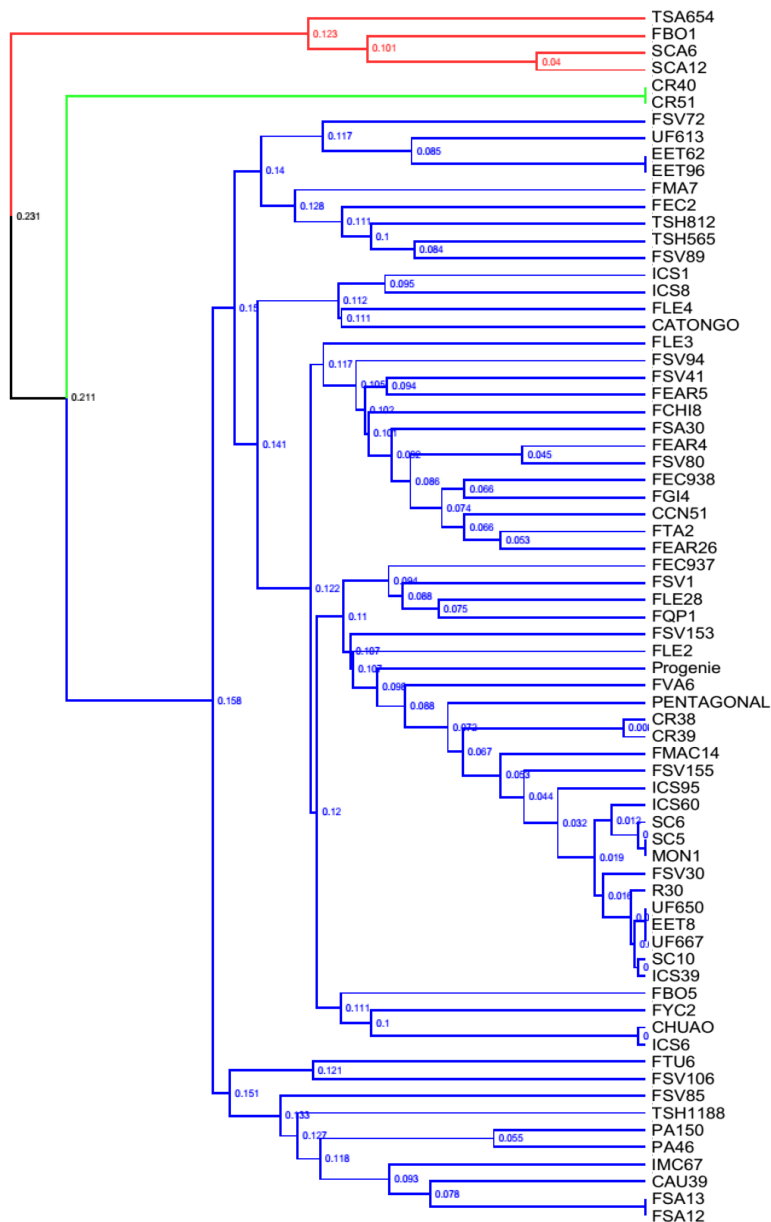
Caracterización morfoagronómica

Resultados



- TSH 565 y FEAR 5 presentan similitud en características de tipo morfológico y de componentes del rendimiento
- ICS 1, ICS 95 y FGI 4 forman un grupo
- ICS 6, ICS 39 e ICS 60 grupo
- FEAR 26 aparte de todos los genotipos

Caracterización molecular



Duplicados

A = EET 62 y EET 96

B = EET 8 y UF 650

C = MON 1 y SC 5

D = CR40 y CR51

Heterocigocidad promedio: 41.1%

CR40, CR51 y Catongo sin heterocigotos

FSV89 (69.5%) y TSH565 (71.6%)

Índice de Shannon diversidad moderada:0.5

Distancia entre la mayoría de los genotipos reducida

3 grupos: FBO1, TSH656, SCA12 y SCA6

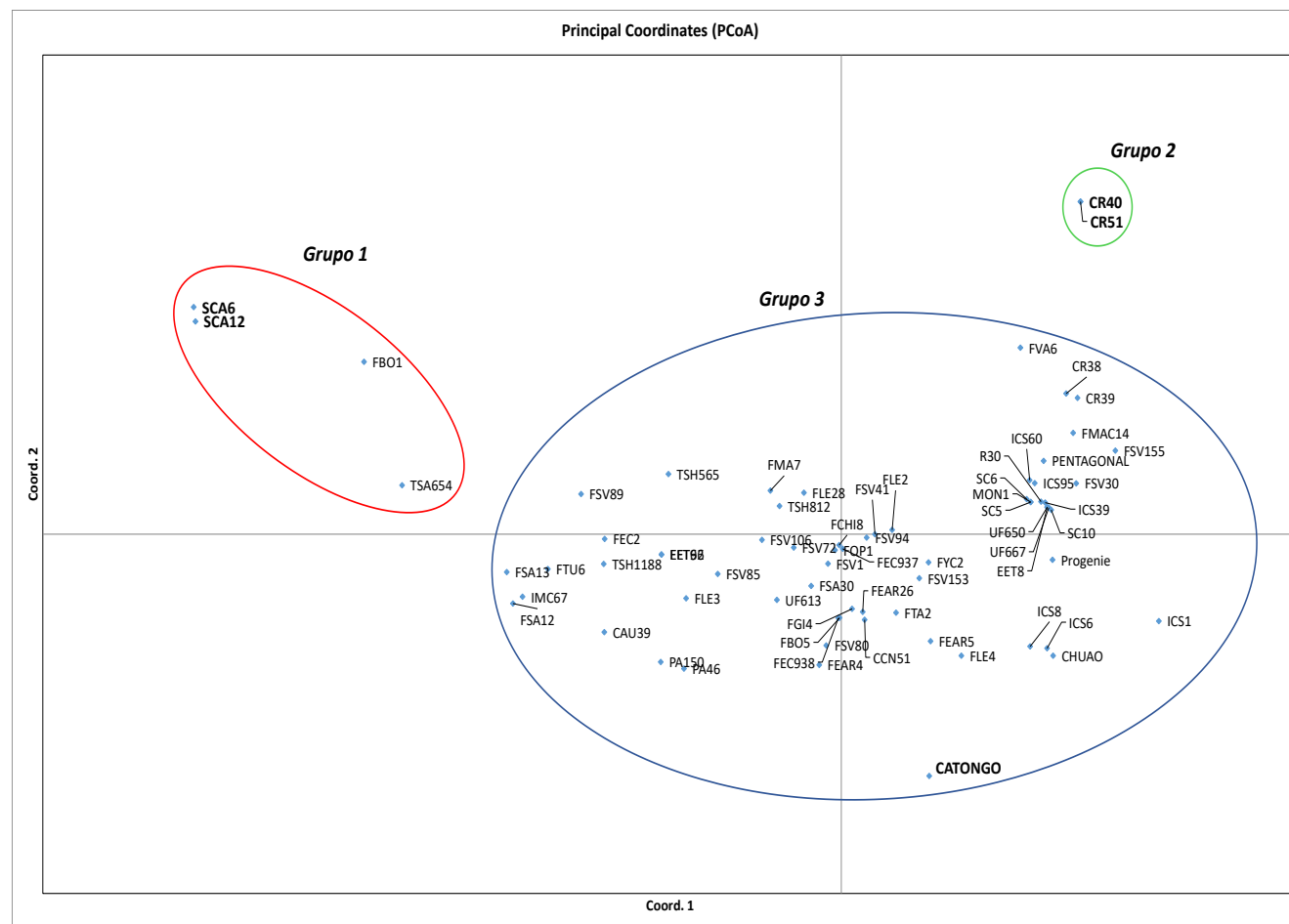
CR40 y CR51

Demás genotipos

Poca diferenciación genética entre FSA12 y FSA13

UF667 con UF650 y EET8

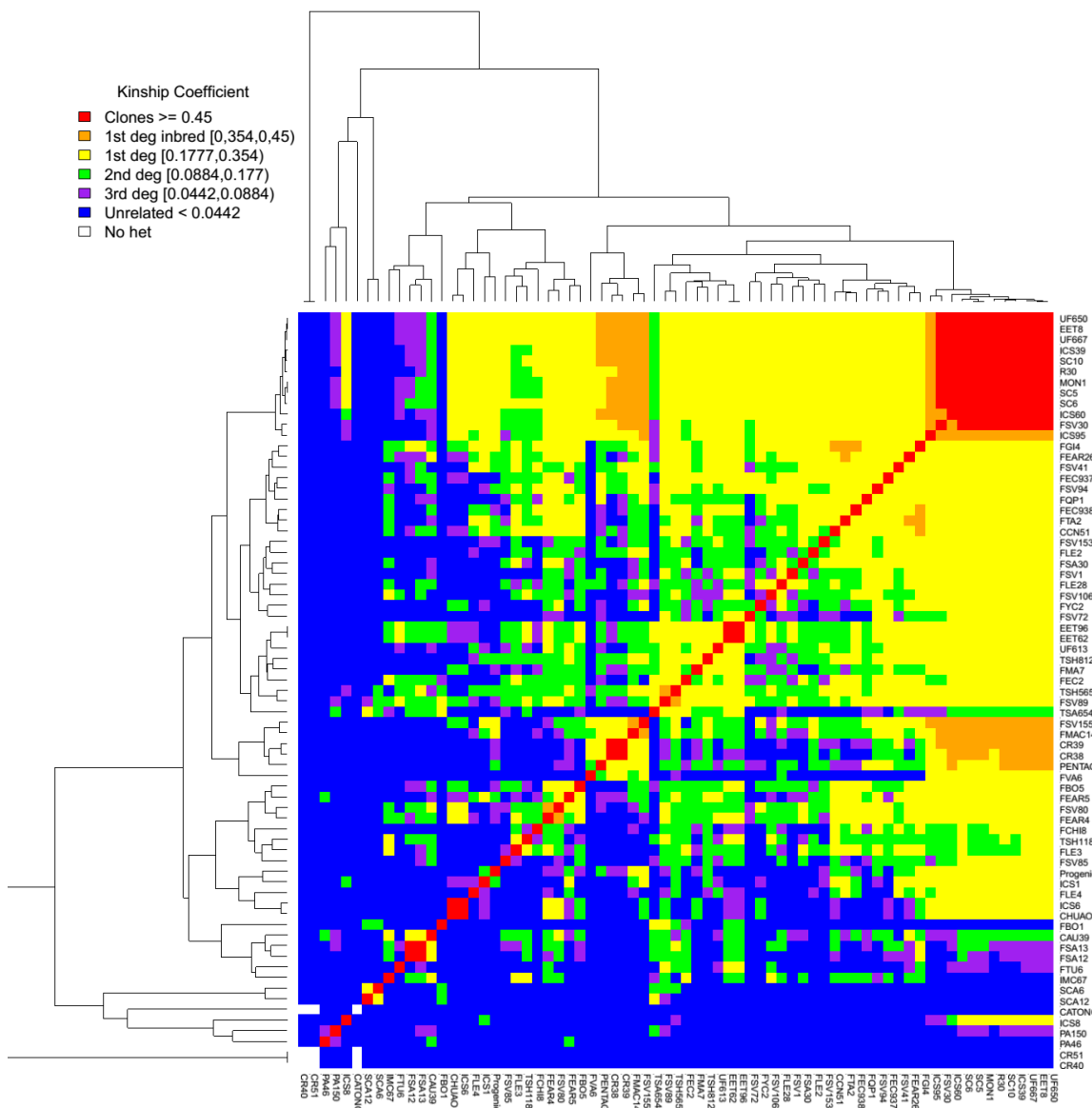
Análisis de Coordenadas Principales (PCoA)



Agrupaciones de genotipos que corresponden con los grupos identificados en el dendograma de distancias.

FBO1 y TSA654 se encuentran en un punto intermedio entre el grupo 3 y 1.

Heatmap a partir de la matriz de coancestría (kinship)



UF 650, EET 8, UF 667, ICS 39, SC 10, R 30, MON 1, SC 5, SC 6, ICS 60, y FSV 30; forman un grupo que comparte alto grado de parentesco.

Homocigotos (Catongo, CR40 y CR51) no fueron comparados entre ellos, sin embargo muestran alta diferenciación respecto al resto de individuos.

Alta diferenciación son SCA6 y SCA12 que fueron identificadas dentro del grupo 1 en el dendograma.

FBO 1 y TSA 654 mostraron compartir un mayor grado de parentesco con otros materiales.

CS 8, PA 46 y PA 150 alta diferenciación indicando que no están cercanamente emparentados con los demás genotipos.

Conclusiones

- Los análisis realizados indican que el conjunto de marcadores SNP usados fueron eficientes en la caracterización de la diversidad genética de cacao, ya que permitieron la obtención 67 perfiles genéticos y la identificación de posibles duplicados.
- Es importante aumentar el número de materiales con diferenciación agronómica y procedencias geográficas diversas.
- El presente estudio indica un alto grado de relación entre los individuos evaluados y en general, una moderada diferenciación genética
- Aporte para proyectos de mejoramiento genético del cacao en Colombia



Referencias

- Argout X., Salse J., Aury J.M., Guiltinan M.J., Droc G., Gouzy J., Allegre M., Chaparro C., Legavre T., Maximova S.N., *et al.* (2011) The genome of *Theobroma cacao*. *Nature Genetics* 43: 101–108.
- Beerli P. (2005) Pairwise distance methods. Computational Evolutionary Biology Course. BSC5936-Fall 2005.
- Bertolde F.Z., De Almeida A.A., Correa R.X., Gomes F.P., Gaiotto F.A., Baligar V.C., Lopes L. (2010) Molecular, physiological and morphological analysis of waterlogging tolerance in clonal genotypes of *Theobroma cacao* L. *Tree Physiology* 30: 56-67.
- Chao A., Jost L., Hsieh T.C., Ma K.H., Sherwin W.B., Rollins L.A. (2015) Expected Shannon Entropy and Shannon Differentiation between Subpopulations for Neutral Genes under the Finite Island Model. *PLoS ONE* 10(6).
- Danecek P., Auton A., Abecasis G., Albers C.A., Banks E., DePristo M.A., Handsaker R., Lunter G., Marth G., Sherry S.T., McVean G., Durbin R. y 1000 Genomes Project Analysis Group. (2011) The Variant Call Format and VCFtools. *Bioinformatics* 27 (15): 2156-2158.
- Fang W., Meinhardt L.W., Mischke S., Bellato C.M., Motilal L., Zhang D. (2013) Accurate Determination of Genetic Identity for a Single Cacao Bean, Using Molecular Markers with a Nanofluidic System, Ensures Cocoa Authentication. *J Agric Food Chem*
- Fluidigm® SNP Genotyping Analysis Software v3. User Guide. © Fluidigm Corporation. All rights reserved. 90p.
- Illic K., D. Zhang, X. Wang, R.C. Jones, L. Meinhardt, J. Wang. (2012) Cacao Germplasm Characterization with 48-SNP Genotyping Panel using Fluidigm® SNPtype™ Assays and Dynamic Array™ Integrated Fluidic Circuits. [Poster], P0196. PAG January 14-18. San Diego, California.
- Ji K., Zhang D., Motilal L.A., Boccara M., Lachenaud P., Meinhardt L.W. (2013) Genetic diversity and parentage in farmer varieties of cacao (*Theobroma cacao* L.) from Honduras and Nicaragua as revealed by single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 60, 441-453
- Kubik C., Honig J., Meyer W., Bonos, S. (2009) Genetic diversity of creeping bentgrass cultivars using SSR markers. *International Turfgrass Society Research Journal* (11).
- Lanaud C., Fouet O., Gramacho K., Argout X. *et al.* (2006) A large EST resource for *Theobroma cacao* including cDNAs isolated from various organs and under various biotic and abiotic stresses. In: Proceedings of the 15th international cocoa research conference, San Jose, Costa Rica, 185-191.
- Liu K., Muse S.V. (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*. 21(9): 2128-2129.
- Manichaikul A., Mychaleckyj J.C., Rich S.S., Daly K., Sale M., Chen W.M. (2010) Robust relationship inference in genome-wide association studies. *Bioinformatics* 26 (22):2867–2873.
- Marita J.M., Nienhuis J., Pires J.L., Aitken W.M. (2010) Analysis of Genetic Diversity in *Theobroma cacao* with Emphasis on Witches' Broom Disease Resistance. *Crop Sci.* 41:1305–1316.
- Michiels A., Van Den Ende W., Tucker M., Van Riet L., Van Laere A. (2003) Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. *Analytical Biochemistry* 315 (1):85-89.
- Motamayor J.C., Risterucci A.M., Lopez P.A., Ortiz C.F., Moreno A., Lanaud C. (2002) Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89: 380-386.
- Motamayor J.C., Lachenaud P., da Silva e Mota J.W., Loor R., Kuhn D.N., Brown J.S., Schnell R.J. (2008) Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS ONE* 3: e3311.
- Motamayor J.C., Mockaitis K., Schmutz J., Haiminen N., Livingstone D., Cornejo O., Findley S.D., Zheng P., *et al.* (2013) The genome sequence of the most widely cultivated cacao type and its use to identify candidate genes regulating pod color. *Genome Biology* Jun 3; 14:r53
- Nei M. (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106: 283-292.
- Peakall R., Smouse P., HUFF D.R. (1995) Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of Buffalograss. *Molecular Ecology* 4 (2): 135-147.
- Peakall R., Smouse P.E. (2012) GenAEx 6.502: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. Oct 1; 28(19):2537-9.
- Quintero C., Zapata Y., Silva E. (2015) Guía Práctica para genotipado de SNPs usando el sistema EPI y SNPtype Assays de Fluidigm version F_03. Manual interno del Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Tejidos MGTCL del CIAT.
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [URL <http://www.R-project.org/>]
- Rambaut A. (2016) FigTree V1.4.2: Tree figure drawing tool. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. [URL: <http://tree.bio.ed.ac.uk/>]
- Rehem B.C., Almeida A.F., Corrêa R.X., Gesteira A.S., Yamada M.M., Valle R.R. (2010) Genetic mapping of *Theobroma cacao* (Malvaceae) seedlings of the Parinari series, carriers of the lethal gene Luteus-Pa. *Genetics and Molecular Research* 9 (3): 1775-1784.
- Reif J.C., Melchinger A.E., Frisch M. 2005. Genetical and Mathematical Properties of Similarity and Dissimilarity Coefficients Applied in Plant Breeding and Seed Bank Management. *Crop Science* 45:1–7.
- Ruiz M., Rouard M., Raboin L.M., Lartaud M., Lagoda P., Courtois B. (2004) TropGENE-DB, a multi-tropical crop information system. *Nucleic Acids Research*, 32: 364-367,
- Sereno M.L., Albuquerque P.S.B., Vencovsky R.; Figueira A. (2006) Genetic diversity and natural population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers. *Conservation Genetics* 7: 13-24.
- Smouse P. E., Peakall R. (1999) Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82 (5):561-573.
- Zapata Y. (2016) Protocolo para extracción de ADN de Cacao V.2. Manual interno del Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Tejidos MGTCL del CIAT



