



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN
BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR: LOZADA VARGAS, PAÚL FRANCISCO

**TEMA: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE 42 ACCESIONES DE LA
COLECCIÓN DE GENOTIPOS DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao*
L.) DE LA EET PICHILINGUE, INIAP, MEDIANTE EL USO DE
MARCADORES MICROSATÉLITES (SSRs)**

DIRECTORA: DRA. KARINA PROAÑO

CODIRECTORA: DRA. LIGIA AYALA

SANGOLQUÍ, OCTUBRE 2014

RESUMEN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo importante para la economía de países de clima tropical; especialmente para el Ecuador por su tradición fina cacaotera. Debido a que las accesiones de cacao deben ser propagadas vegetativamente, para conservar su integridad genética, su germoplasma se mantiene en colecciones vivientes en campo; lo cual se ha convertido en un problema debido a la presencia de accesiones duplicadas, errores extraclonales, y en árboles mal identificados en determinadas accesiones, es decir errores intraclonales. Por este motivo los estudios en base a biología molecular son de vital importancia para el establecimiento y mantenimiento de importantes colecciones de *T. cacao*. En el presente trabajo, se estableció el uso de 20 microsatélites para realizar el genotipaje, usando la tecnología M13 *tailing* junto con el equipo LI-COR 4300S, para caracterizar y generar el perfil genético de 400 árboles pertenecientes al Bloque I de la CGN (Colección de Genotipos de Cacao Nacional) en la EET Pichilingue del INIAP. Cuarenta y dos accesiones fueron caracterizadas molecularmente, encontrándose que no existen errores extraclonales; sin embargo se halló un alto número de errores intraclonales. Del total de accesiones en estudio el 71.42% presentó al menos 1 error intraclonal, mientras que el 28.58% no presentan ningún error. Además entre los 400 individuos analizados, se encontró que el 21.5% presentó un perfil genético distinto, cayendo dentro de los errores intraplanta. Esta investigación permitió determinar una medida de diversidad génica (H_e) de 0.616; un promedio de 6.15 alelos por marcador molecular utilizado y un contenido promedio de información de polimorfismo (PIC) de 0.558. Los resultados obtenidos resaltan la importancia que tiene la inclusión de la biología molecular para el establecimiento, mantenimiento y depuración de las colecciones de germoplasma, no solo del Ecuador sino a nivel mundial. De esta manera se espera aportar más herramientas tecnológicas para el fitomejoramiento de un cultivo tan importante como el cacao.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L., nacional, diversidad, identificación, microsatélites, biología molecular, genotipaje, germoplasma, CCAT

ABSTRACT

Cacao (*Theobroma cacao* L.) is an important cash crop in many tropical countries. Specially for a traditionally producer as Ecuador. Cacao accessions must be propagated vegetatively to conserve genetic integrity. Therefore, cacao germplasm is usually maintained as living trees in field collections and has resulted in varying rates of misidentification and duplication. This is the reason why it is important to use molecular tool. In this investigation 400 trees were fingerprinted, using 20 microsatellite loci, all trees were located at the CGN at EET Pichilingue – Ecuador. As a result we found a high rate of intraplant errors, 71,42% of 42 the accessions had at least 1 non belongin plant. While 28,58% had no problems within their clones. In addition 21,5% of the population analized resulted in a different genetic fingerprint Also a genetic diversity (H_e) of 0,616, was revealed, and a mean od 6,15 alleles per molecular marker. Because of this, its is becoming important to include molecular tools for an efficient use of cacao in conservation and breeding and improve its economic and agronomic value.

Keywords: *Theobroma cacao* L., cocoa, diversity, identification, microsatellites, molecular biology, genotyping, germplasm, CCAT