

**ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**SELECCIÓN ESTABLE DE MARCADORES  
MOLECULARES MICROSATÉLITES (SSRs) PARA LA  
IDENTIFICACIÓN DE CLONES COMERCIALES DE  
CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.),  
RECOMENDADOS POR EL INIAP**

**Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:**

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA**

**ELABORADO POR:**

**CRISTINA GABRIELA ROSERO GALARRAGA**

**SANGOLQUÍ, JULIO DE 2013**

## RESUMEN

La alta demanda de materiales genéticos en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.), requeridos para la renovación, rehabilitación e implementación de nuevas plantaciones ha dado origen al aumento de centros de propagación de esta especie, los mismos que no cumplen con criterios técnicos calificados especialmente en procesos de multiplicación clonal. En estas condiciones la certificación de viveros para material de propagación se realiza en base a características fenotípicas, sin autenticación de genotipos. Con estos antecedentes se propuso el uso de marcadores moleculares microsatélites de selección estable, identificando individuos de cacao Nacional "Fino de Aroma". En este estudio se utilizaron 17 SSRs para obtener la identidad genética de 31 accesiones incluyendo las recomendadas por INIAP. Para la asignación de pesos moleculares de los productos amplificados se empleó la técnica de migración mediante corrida electroforética en geles de poliacrilamida, los resultados fueron revelados en tinción con nitrato de plata y fluorescencia en un sistema semiautomatizado. Los análisis multivariados aplicados a los genotipos en estudio, revelaron la existencia de cinco grupos: EET, SNA, CCN, ESS y AIS. Los genotipos EET formaron un grupo diverso, para el cual no se encontraron alelos específicos, con excepción del alelo de 289pb, en el locus mTcCIR 22 del genotipo EET-19. Por tal motivo, se seleccionó en base a frecuencias alélicas marcadores microsatélites que diferencien al grupo de los genotipos EET, siendo estos: mTcCIR 6, mTcCIR 12, mTcCIR 24 y mTcCIR 58. Los marcadores seleccionados permitieron identificar clones fuera de tipo en diferentes sistemas de propagación asexual. Con lo cual el presente estudio ha hecho contribuciones importantes para determinar la estructura y singularidad genética del cacao.

## Abstract

The high demand for genetic materials in the cultivation of cocoa (*Theobroma cacao* L.), required for the renovation, rehabilitation and implementation of new plantations has given rise to a proliferation of centers of propagation, which do not meet criteria qualified technicians especially during the processes of clonal multiplication. In these conditions the certification of nurseries for propagation material, is performed on the basis of phenotypic characteristics, which do not provide a criterion of confidence for the authentication of genotypes. In this sense, we propose the use of molecular markers of microsatellite stable selection, to carry out the identification of individuals of National cocoa "Fine Aroma". 17 SSRs were used to obtain the genetic identity of 31 accessions within which are the recommended by INIAP. For the allocation of molecular weights of the amplified products are employment the migration technique using electrophoretic run in polyacrylamide gels, whose results were revealed in silver nitrate staining and fluorescence in a semi-automated system. The multivariate analyses tested in genotypes were differentiated five groups: EET, SNA, CCN, ESS and AIS. The genotypes EET are a heterogeneous group for which no specific alleles were found, with the exception of the 289pb, in the locus mTcCIR 22 of the genotype EET-19. For this reason, was selected on the basis of allelic frequencies microsatellite markers that differentiate the EET group of genotypes, these being: mTcCIR 6, mTcCIR 12, mTcCIR 24 and mTcCIR 58. The selected markers allowed identifying clones out of type in different systems of asexual propagation. The present study has made important contributions to determine the structure and genetic uniqueness of cocoa.