

1 **SELECCIÓN DE HÍBRIDOS VERDADEROS F<sub>1</sub> DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)**  
2 **POR MARCADORES MOLECULARES**

3

4 **SELECTION OF HYBRID F<sub>1</sub> TRUE COCOA (*Theobroma cacao* L.) BY**  
5 **MOLECULAR MARKERS**

6

7 **RESUMEN**

8       En México, el cacao se cultiva en 61,562 hectáreas. Es importante incluir en los  
9 programas de mejoramiento, la selección por medio de la relación del parentesco por  
10 marcadores moleculares. Con base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue:  
11 establecer relaciones de parentesco entre híbridos F<sub>1</sub> de cacao de las cruzas ICS 95 x INIFAP  
12 1 e INIFAP 1 x ICS 95. Los marcadores utilizados fueron a base de microsátelites (SSR):  
13 mTcIR 8 y mTcCIR 24 así como secuencias simples inter repetidas (ISSR): UBC 829, UBC  
14 835 y UBC 841. Los resultados mostraron 100% de alelos polimórficos entre los parentales  
15 materno y paterno. Estos marcadores permitieron identificar 58 híbridos F<sub>1</sub> de un total de 61.  
16 De acuerdo a los marcadores utilizados y sus valores correspondientes al contenido de  
17 información polimórfica (PIC), estos fueron informativos, lo que avala que los marcadores  
18 utilizados en la presente investigación son confiables.

19 **Palabras clave:** Cacao, marcadores moleculares, mejoramiento genético.

20

21

22

23

24

25

1 **ABSTRACT**

2 In Mexico, cocoa is grown on 61,562 hectares. It is important to include in breeding  
3 programs, selection by the relationship of kinship by molecular markers. Based on the above,  
4 the objective of this study was to: establish relations of kinship between hybrids F1 of cocoa  
5 of crosses ICS 195 x INIFAP 1 and INIFAP 1 x ICS 95. The markers used were based on  
6 microsatellite (SSR): mTcIR mTcCIR 8 and mTcCIR 24 as well as inter simple sequence  
7 repeat (ISSR): 829 UBC, UBC 835 and UBC 841. The results showed 100% of polymorphic  
8 alleles between maternal and paternal parent. These markers allowed to identify 58 hybrids F1  
9 of a total of 61. According to the markers used and their corresponding values polymorphic  
10 information content (PIC), these were informative, which guarantees that the markers used in  
11 this investigation are reliable.

12  
13 **Key words:** Cocoa, molecular markers, genetic improvement.

14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26

# 1 INTRODUCCIÓN

2 En México, el cacao (*Theobroma cacao* L.) se cultiva en 61,562 hectáreas, mientras que  
3 en el estado de Tabasco se cuenta con una superficie establecida de 40,782 hectáreas, las  
4 20,544 hectáreas restantes corresponden al estado de Chiapas (SIAP, 2014). En el proceso  
5 productivo intervienen cerca de 50 mil familias de los estados de Tabasco y Chiapas. Para  
6 la industria chocolatera nacional, el cacao representa la materia prima para la elaboración del  
7 chocolate y su calidad ha sido preferida por esta industria (Barrón, *et al.* 2014). Sin embargo,  
8 desde la llegada de la “moniliasis” a México en el norte de Chiapas en febrero de 2005, ha  
9 provocado pérdidas en la producción del 40 % (Phillips-Mora, *et al.* 2006). Este problema ha  
10 generado desaliento entre los productores por el desconocimiento del manejo de la  
11 enfermedad y recientemente, cerca de 1000 ha han sido derribadas en el estado de Tabasco  
12 debido a la afectación de la “moniliasis” (Barrón, *et al.* 2014).

13 Este problema podría incrementarse y ocasionar una disminución de las zonas  
14 cultivadas, lo que provocaría indirectamente un deterioro ambiental por la disminución en la  
15 captura de carbono que proporciona este agroecosistema. Los efectos devastadores de este  
16 patógeno en cacao han sido dramáticos y bien documentados en diferentes épocas y países  
17 (Phillips-Mora y Wilkinson, 2007). De acuerdo a los reportes, la “moniliasis” tiene su origen  
18 entre Colombia y Ecuador. Existen reportes de 1817 en Colombia, sobre la aparición de la  
19 enfermedad en el oriente y centro del país (Phillips-Mora, *et al.* 2007), para el año de 1895  
20 se registra el primer indicio de la presencia de una enfermedad cuya descripción coincide con  
21 la “moniliasis” (Suárez, 1982). Además, de su dispersión en estos países, el hongo está  
22 presente en Venezuela, Perú, Panamá, Nicaragua, Costa Rica y Honduras, donde es uno de  
23 los principales factores que limitan el rendimiento de la producción de cacao en las áreas  
24 afectadas.

1 Considerando la gran susceptibilidad de todos los genotipos comerciales de cacao, la  
2 agresividad de este patógeno, su capacidad de sobrevivir en diferentes condiciones  
3 ambientales y su rápida dispersión natural, *M. royeri* representa una gran amenaza para los  
4 agricultores (Jaimes y Aranzazu, 2010).

5 En los últimos 25 años de investigación, se han identificado clones resistentes a la  
6 “moniliasis” con distinto origen genético y/o geográfico. Estos clones Se han cruzado  
7 progresivamente para obtener variedades con niveles crecientes de resistencia en Costa Rica,  
8 aprovechando de esta forma el carácter predominante aditivo que tiene esta característica del  
9 cacao, estos estudios han adquirido recientemente relevancia mundial por ser la “moniliasis”  
10 una de las amenazas más graves del cultivo de cacao (Phillips-Mora *et al.* 2012).

11 En la actualidad existen genotipos reportados como resistentes a la “moniliasis” como:  
12 ICS 95 (Trinidad y Tobago), UF 273 (Costa Rica), PA 169 (Perú), EET 233 (Ecuador) y EET  
13 183 (Ecuador), estos materiales fueron introducidos por el INIFAP en el año 2006 a México  
14 y han mostrado producción de 0.7 Kg de grano seco por árbol para el clon PA 169, 1 Kg  
15 para el clon UF 273 y 1.5 Kg en el clon ICS 95 y después de cinco años de evaluación han  
16 mostrado resistencia.

17 Estudios en Colombia, indican que es factible encontrar materiales resistentes o con  
18 tolerancia, el clon IMC-67 y algunos híbridos donde este clon interviene, ofrecen  
19 comportamientos aceptables y promisorios ante la “moniliasis”, los genotipos E1, IMC-67 y  
20 P7 fueron calificados como tolerantes por su mediano daño interno y por presentar mayor  
21 tiempo de duración en la expresión de síntomas (Rodríguez y Medina, 2005).

22 Por otra parte, se ha encontrado sólo una resistencia de un tercio del 1 %, es decir, 0.3 %  
23 de 600 accesiones realizadas en el programa de mejoramiento genético del CATIE, de éste  
24 estudio, después de 15 años de evaluación se seleccionaron seis clones trinitarios (CATIE-R1,

1 CATIE R-4, CATIE R-6, CC-137, ICS-95 y el PMCT-58) de buena producción y tolerancia a  
2 la moniliasis (Debouck *et al.* 2008, Phillips-Mora *et al.* 2012).

3 De acuerdo con Somarriba *et al.*, (2010), las polinizaciones manuales se tiene la ventaja  
4 de poder escoger los árboles que serán el padre y la madre de las semillas, del cual se obtienen  
5 semillas híbridas de calidad cruzando los mejores árboles padre y madre. La generación de  
6 clones con alta resistencia permitiría producir cacao en ambientes infestados con  
7 “moniliasis”, en donde la única alternativa hasta hace poco era el abandono o cambio de  
8 actividad de las plantaciones (Phillips-Mora *et al.* 2012); por ello es de suma importancia  
9 incorporar caracteres de resistencia a la “moniliasis” a genotipos mexicanos altamente  
10 productivos, pero adicionalmente es importante incluir en los programas de mejoramiento  
11 genético, la selección de híbridos verdaderos por medio de la relación del parentesco por  
12 medio de marcadores moleculares, esto permitirá confirmar la integridad de la progenie  
13 (Schnell *et al.* 2004).

14 Al respecto, un marcador genético es una diferencia fenotípica controlada  
15 genéticamente. Un marcador puede utilizarse con doble finalidad, para marcar o señalar el  
16 locus que controla la diferencia fenotípica y/o para marcar otro locus próximo que controle  
17 algún carácter de interés (Nuez y Carrillo, 2000).

18 Actualmente, los marcadores que se usan en cacao son con base al ADN,  
19 específicamente, los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por  
20 sus siglas en ingles), polimorfismo de ADN amplificado al azar (RAPD, por sus siglas en  
21 ingles), polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP, por sus siglas en  
22 ingles) y secuencias simples repetidas (SSR, por sus siglas en ingles). Estos marcadores  
23 difieren en abundancia genómica, el nivel de polimorfismo detectado, la especificidad hacia el  
24 *locus*, la reproducibilidad, los requerimientos técnicos y el costo (Semagn *et al.* 2006).

1           Así mismo, los microsatélites o simples *loci* de repetición de secuencia (SSR), han sido  
2 utilizados en cacao y fueron descritos por primera vez por Hamada *et al.* (1982) como  
3 secuencias cortas de DNA constituidas por motivos de 1 a 6 nucleótidos repetidos en tándem.  
4 Estas secuencias no se transcriben a ARN y las funciones que se les atribuye se incluyen la  
5 regulación génica y la de actuar como señales para la conservación génica y la recombinación  
6 (Jeffreys *et al.*, 1985; Victoria *et al.*, 2011). Estos se encuentran en todo el genoma de la  
7 mayoría de los eucariotas y en menor medida en procariontas y pueden variar desde uno hasta  
8 seis nucleótidos de longitud y se clasifican como mono-, di-, tri-, tetra-, penta-y  
9 hexanucleótido. Ellos están repetidos en tándem (generalmente 5-20 veces) en el genoma con  
10 una longitud de repetición mínimo de 12 pares de bases (Wang *et al.* 2009).

11           Generalmente, las repeticiones de dinucleótidos constituye los microsatélites más  
12 comunes, que pueden ser de tres tipos: perfectos (ej. (CA)<sub>n</sub>) imperfectos (ej. (CA)<sub>n</sub>-CCA-  
13 (CA)<sub>m</sub>) y compuestos (ej. (CA)<sub>n</sub>(TG)<sub>m</sub>), donde n y m son el número de repeticiones del  
14 motivo. En genomas vegetales el dinucleótido más repetido es el (AT)<sub>n</sub>, aunque existen  
15 particularidades según la especie vegetal. Así, se ha encontrado que en cebada y en arroz el  
16 microsatélite más abundante es el (GA)<sub>n</sub> (Wang *et al.* 1994).

17           Por otra parte, los ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeats*), descrita por Zietkiewicz et  
18 al. (1994), son un tipo de marcador genético que permite obtener los niveles de variación en  
19 las regiones microsatélite que se encuentran dispersas en varios genomas, particularmente el  
20 nuclear. Estas regiones consisten en repeticiones en *tandem* de motivos simples como (CT)<sub>n</sub> o  
21 (CA)<sub>n</sub>, ubicadas entre secuencias no repetitivas del genoma nuclear eucarionte (Zietkiewicz  
22 *et al.* 1994).

23           Dentro del programa de mejoramiento genético de cacao del INIFAP y derivado de la  
24 investigación de resistencia a moniliais (*Moniliophthora roreri*), se desarrollaron una serie de  
25 cruces usando como progenitores masculinos: ICS 95, PA 169 y UF 273 y como madres se

1 usaron los genotipos INIFAP 1, INIFAP 8 e INIFAP C y a su vez se realizaron cruzas  
2 recíprocas, con énfasis a crear nuevos híbridos resistentes a esta enfermedad (Barron *et al.*  
3 2014). Por lo que resulta imprescindible identificar los híbridos F<sub>1</sub> de estas poblaciones, de  
4 lo cual el presente trabajo tuvo como objetivo: establecer relaciones de parentesco entre  
5 híbridos F1 formados de cacao producto de las cruzas ICS 95 x INIFAP 1 e INIFAP 1 x ICS  
6 95.

7

## 8 **Materiales y métodos**

9 La formación de híbridos se desarrolló de acuerdo al protocolo descrito por Barrón *et al.*  
10 (2014). Las hibridaciones se realizaron desde febrero de 2012 y finalizaron en agosto de 2013  
11 en el Campo Experimental Huimanguillo, perteneciente al INIFAP. Este campo experimental  
12 se localiza en el edo. de Tabasco, en el km 1 de la carretera Huimanguillo-Cárdenas, sus  
13 coordenadas son 17°51'04.52''N 93°23'46.96'' O, a una elevación de 20 msnm. En esta zona  
14 se cuenta con clima cálido húmedo, con temperatura anual de 25 °C y con una precipitación  
15 pluvial de 2,200 mm; los suelos son tipo gleysoles, acrisoles y fluvisoles.

16 **Material Biológico.** La colecta de hojas jóvenes de cacao se realizó de la plantación de  
17 híbridos establecida en el Campo Experimental Huimanguillo, INIFAP, México, las cuales  
18 fueron enviadas para su análisis a la unidad de biotecnología del INIFAP localizada en el  
19 Campo Experimental Bajío. Se les asignó un número para identificarlas durante las pruebas  
20 de laboratorio y se almacenaron a -20 °C. En este trabajo se reporta únicamente la  
21 información generada de las cruzas ICS 95 x INIFAP 1 (INI 1, 24 híbridos) INIFAP 1 x ICS  
22 95 (37 híbridos), dando un total de 61 híbridos analizados.

23 **Aislamiento de DNA.** A partir del tejido foliar se realizó el aislamiento de DNA de acuerdo  
24 al método descrito por Doyle y Doyle (1987).

1 **Cuantificación y Calidad del DNA.** Los aislados del DNA de las diferentes muestras de  
2 hojas de cacao se analizaron empleando el NANODROP 8000 (Thermo Fisher Scientific Inc.,  
3 81 Wyman Street Waltham, MA 02454 USA).

4 **Microsatélites.** Se realizó la selección de los SSR de acuerdo al número de alelos y el  
5 Contenido de Información Polimórfica (PIC) con las siguientes condiciones: menor número  
6 de alelos y que su PIC sea cercano a 1, lo que nos indica que es un marcador altamente  
7 informativo.

8 Los ISSR se seleccionaron de acuerdo a los resultados obtenidos por Chia-Wong *et al.*  
9 (2011) (Tabla 1). El cual utilizó 63 ISSR de los cuales 13 obtuvo resultados sobresalientes.

10

11 **Tabla 1.**

12

13 **Selección de los SSR e ISSR para las cruzas**

14

15 Para llevar a cabo la selección de los marcadores por población, los progenitores fueron  
16 amplificados por medio de PCR de acuerdo a su temperatura de alineamiento de cada  
17 marcador. La PCR fue llevada a cabo en un volumen final de 20  $\mu$ L por reacción: 1X Taq  
18 Buffer, 0.2 mM de dNTPs, 3 mM de  $MgCl_2$ , 1 U Taq polimerasa (Invitrogen, Life  
19 Technologies Corporation, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008 USA), 1  $\mu$ M de  
20 marcador y 20 nanogramos (ng) de DNA. Para correr la PCR, se utilizó un termociclador  
21 Veriti® Thermal Cyclers (Life Technologies Corporation, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, CA  
22 92008 USA) programado de acuerdo a la temperatura de alineamiento de cada marcador. Los  
23 fragmentos amplificados con 8  $\mu$ L de Biotina-orange se separaron mediante electroforesis  
24 horizontal en geles de agarosa al 1.5 % en buffer SB 1X. Se cargó 250 ng con marcador de  
25 peso molecular (1 Kb plus). Se corrió a 160 voltios por 90 minutos y se capturó la imagen del  
26 DNA en el fotodocumentador BIO-RAD (Bio-Rad Laboratories, 1000 Alfred Nobel Drive

1 Hercules, CA 94547 USA). Posteriormente se obtuvieron los pesos moleculares mediante el  
2 programa Kodak Digital Science 1D.

3

#### 4 **Análisis de resultados por el método de agrupamiento**

5 Para el análisis de los resultados, la información genética se decodificó en matrices  
6 binarias de presencia / ausencia del total de los alelos presentes tanto en los progenitores  
7 como en la descendencia para cada población estudiada. Se asignó el número 1 (uno) si en el  
8 individuo ésta presenta el alelo y 0 (cero) para la ausencia. Se les asignó el valor de 9 (nueve)  
9 a las amplificaciones considerados como datos no definidos o datos perdidos. Con el  
10 programa de NTSYS-pc 2.0 (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System,  
11 Applied Bioestatics Inc., NY, EUA) (Rohlf, 1997) se generó una matriz de similitud con el  
12 algoritmo SimQual y el coeficiente de similitud (SM). Para la identificación de los  
13 híbridos se tomó como indicador  $\leq 90\%$  de similitud con respecto al parental ♀ y para las  
14 autofecundaciones  $> 90\%$ . Las semejanzas genéticas a nivel de DNA fueron agrupadas por el  
15 método de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) en la  
16 opción de SAHN, para de ahí derivar la formación del dendrograma de similaridad entre los  
17 alelos del estudio.

18

#### 19 **ANÁLISIS MOLECULAR**

20 **Método de agrupamiento.** Esta fue realizada de acuerdo a Skroch *et al.* 1992, de donde se  
21 obtuvo una matriz de disimilaridad o distancias genéticas que contiene las distancias entre  
22 todos los posibles pares de individuos, posteriormente se graficó el dendrograma a partir de  
23 la matriz de disimilaridad.

24

1 **Contenido de Información Polimórfica (PIC).** El valor PIC toma en cuenta los alelos  
2 polimórficos de toda la población, sin darle un peso específico a estos últimos. El PIC, se  
3 refiere a la habilidad de un marcador dado para detectar polimorfismo dentro de una  
4 población (Anderson *et al.* 1993). El PIC depende del número de alelos detectables y sus  
5 frecuencias y es un parámetro que ayuda en la determinación de la relación del alelo al factor  
6 de estudio, el análisis del acervo genético y su relación con la identificación de híbridos en F<sub>1</sub>.  
7  
8 Los valores PIC para los alelos considerados altamente informativos tuvieron un valor  
9  $PIC > 0.50$ ; razonablemente informativos  $0.50 > PIC > 0.25$ ; y con baja confianza informativa  
10  $PIC > 0.25$  (Botstein *et al.* 1980). En el presente trabajo se usó la versión simplificada para el  
11 cálculo del PIC de Lagercrantz *et al.* (1993), en donde se asume que los alelos son  
12 homocigotos y la fórmula usada para calcular el PIC fue:  $PIC = 1 - \sum p_i^2$ , donde pi es la  
13 frecuencia de cada alelo (Warburton y Crossa, 2002).

14

## 15 **Resultados**

16 **Análisis de los microsatélites (simples loci de repetición de secuencia, SSR).** En la Figura  
17 1, se presentan las amplificaciones de los marcadores con cada uno de los progenitores y en el  
18 Tabla 2, se muestran los pesos moleculares de los alelos de los progenitores en mTcCIR 6  
19 (A), mTcCIR 8 (B), mTcCIR 24 (A) y mTcCIR 26 (B).

20

21 **Figura 1.**

22

23

24 **Tabla 2.**

25

26 **Análisis de las secuencias simples inter repetidas (ISSRs, *Inter Simple Sequence Repeats*):**

27 En la Figura 2 se presentan las amplificaciones de los marcadores UBC 829 (A), UBC 830  
28 (B), UBC 835 (A) y UBC 841 (B) con cada uno de los progenitores.

1 **Figura 2.**

2

3 En la Tabla 3 se muestran los pesos moleculares de los alelos de los progenitores en UBC  
4 829, UBC 830, UBC 835 y UBC 841.

5

6 **Tabla 3.**

7

8 Los marcadores utilizados en este estudio a base de los microsátelites y *secuencia simples*  
9 *interepetidas* se encontró que los marcadores SSR: mTcIR 6, mTcIR 8 y mTcCIR 24 así  
10 como los ISSR: UBC 829, UBC 835 y UBC 841 mostraron el 100% de alelos polimórficos  
11 entre los parentales materno y paterno de cada cruce, solamente el marcador mTcCIR 26 no  
12 fue detectado.

13 El Contenido de Información Polimórfica (PIC) detecto el polimorfismo dentro de las cruces  
14 analizadas y este parámetro permitió la identificación de híbridos en F<sub>1</sub>. En la Tabla 4 se  
15 presentan los valores PIC de los marcadores en cada población de *Theobroma cacao* L.

16

17 **Tabla 4.**

18

19

20 **Análisis de la población ICS-95 X INI-1 y contenido de información polimórfica (PIC).**

21 Con base en el dendrograma (Figura 3) se definieron tres grupos, A B y C, donde en el grupo  
22 A se encuentra el parental materno (ICS-95-♀) y los individuos 41, 59, 92, 241, 338 y 355.

23 De acuerdo al índice de similitud (Tabla 5) se determinó entre el 50 y 56 % de identidad  
24 genética de los individuos con respecto a ICS-95-♀, éstos se consideran productos de la cruce

25 (híbridos), ya que presentan aproximadamente la mitad de la información genética para el

26 parental paterno (INI-1-♂). Cabe señalar que el individuo 241 presentó el 72 % de identidad

27 con respecto a ICS-95-♀. En el grupo B, en el dendrograma se agrupan el parental paterno

28 (INI-1-♂) y los individuos 58, 179, 183 y 249, los cuales presentan el 85 % de similitud

29 genética con respecto a INI-1-♂, lo que nos indica que son individuos producto de la cruce

30 artificial entre los parentales ICS-95 x INI-1.

1 **Figura 3.**

2

3

4 **Tabla 5.**

5 Finalmente los individuos que se agrupan en el tercer conjunto (grupo C) son individuos que

6 presentan un rango de identidad entre el 39-56 % con respecto a INI-1-♂, los que se

7 consideran como híbridos de la cruce. Con base en estos resultados, se considera que todos

8 los segregantes de esta población son derivados de la cruce de los parental ICS-95 x INI-1.

9 En la Tabla 6 se observa el indicador PIC para los marcadores moleculares utilizados en el

10 estudio de la población ICS-95 x INI-1, donde los ISSR se consideran altamente informativos

11 (PIC>0.50), ya que presentan un rango del 0.71 y 0.74 de información polimórfica. Mientras

12 que los SSR se consideran como razonablemente informativos, los cuales están entre los

13 valores 0.42 y 0.49.

14

15 **Tabla 6.**

16

17

18

19 **Análisis de la población INI-1 X ICS-95 y contenido PIC.**

20

21 En base al dendograma, esta población se dividió en dos grandes grupos, A y B. En la Figura

22 4 se muestra el dendrograma del grupo A donde se encuentra el parental materno (INI-1-♀),

23 en el que podemos definir dos subgrupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>.

24

25 **Figura 4.**

26

27

28

29 En la Tabla 7 se muestran los individuos pertenecientes a los subgrupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>. En el

30 subgrupo A<sub>1</sub> presentan un rango entre el 71-92 % de similitud con respecto a INI-1-♀, de los

31 cuales los individuos 306 y 259 se consideran como autofecundaciones, ya que presentan el

32 92 % de similitud de su información genética con respecto a INI-1-♀; mientras que el resto de

33 los segregantes son híbridos.

1 **Tabla 7.**

2

3 El subgrupo A<sub>2</sub>, presenta un rango del 42-71 % de similitud con respecto al parental materno,  
4 los cuales se consideran como híbridos (Tabla 7).

5 En el grupo B se encuentra el parental paterno (ICS-95-♂), donde podemos definir dos  
6 subgrupos B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> (Figura 5).

7

8 **Figura 5.**

9

10

11 Los segregantes del subgrupo B<sub>1</sub> presentan un rango del 58-96 % con respecto a ICS-  
12 95-♂, donde los individuos 303 y 319 presentan el 96 y 92 % respectivamente, por lo tanto, se  
13 consideran como híbridos. Los individuos del subgrupo B<sub>2</sub> presentan un rango entre el 0.46 y  
14 0.75 % de similitud con respecto a ICS-95-♂ (Tabla 7). Sin embargo, el individuo 45 se  
15 descarta porque no hay razón biológica de que un individuo sea idéntico al padre, lo cual se  
16 sugiere realizar un estudio empleando una mayor cantidad de marcadores.

17

18 En la Tabla 8 se observa el valor PIC de los marcadores moleculares de la población  
19 INI-1 X ICS-95, donde los SSR se consideran como razonablemente informativos, los cuales  
20 presentan un rango 0.47 y el 0.50 de información polimórfica, cumpliendo con la condición  
21 de:  $0.5 > PIC > 0.25$ . Mientras que los ISSR UBC 829, UBC 835 y UBC 841 se consideran  
22 como altamente informativos.

23

24 **Tabla 8.**

25

26

27 **DISCUSIÓN**

28

29 El desarrollo de cruzamientos controlados para estudios genéticos es esencial para el  
30 mejoramiento genético de cacao y los resultados hacen necesario confirmar que la  
31 descendencia F1 corresponda a híbridos de padre y madre conocidos. En la actualidad, el uso

1 de marcadores moleculares, hace posible esta identificación, la cual ha sido demostrada para  
2 confirmación parental de diferentes accesiones en bancos de germoplasma (Motilal y  
3 Boccara, 2004; Turnbull *et al.* 2004) y de cruzas importantes como SCA6 x ICSI para la  
4 resistencia a escoba de bruja (Schnell *et al.* 2004). La identificación de híbridos verdaderos  
5 en este trabajo, ha facilitado su evaluación en campo debido a que solamente se trabajara con  
6 híbridos verdaderos (datos no mostrados), de acuerdo a Gultinan (2007) el uso de los  
7 marcadores moleculares permitirá en cacao acortar el tiempo de obtención de nuevas  
8 variedades y los costos de manejo de un programa de mejoramiento.

9 Los marcadores utilizados en este estudio a base de los microsátelites y secuencia  
10 simples interrepitidas se encontró que los SSR: mTcIR 8 y mTcCIR 24 así como los ISSR:  
11 UBC 829, UBC 835 y UBC 841 mostraron el 100% de alelos polimórficos entre los  
12 parentales materno y paterno de cada cruza, solamente el marcador mTcCIR 24 no fue  
13 detectado, estos resultados son similares a lo reportado por Zhang *et al.* (2009) y Gultinan  
14 (2007), los cuales han señalado que los marcadores SSR son los más aceptados y confiables  
15 para la caracterización molecular de cacao. Esto se debe a que son simples de realizar, posible  
16 de automatizar y altamente reproducibles. Los SSR se han estado utilizando para  
17 caracterización de germoplasma de cacao (Zhang *et al.* 2009) y su aplicación de estos  
18 marcadores ha permitido entender mejor la variación genética.

19 La diversidad y estructura genética de 165 materiales de cacao en Colombia fue  
20 evaluada mediante el análisis de doce loci ubicados por microsátelites y ha permitido  
21 confirmar la similitud genética existente entre las poblaciones (Ruiz-Eraza *et al.* 2015). En el  
22 presente trabajo, fue posible identificar 58 híbridos verdaderos y determinar su índice de  
23 similitud genética por medio de microsátelites e ISSR, sin embargo se observó mayor  
24 poliformismo utilizando los ISSR. El elevado polimorfismo que presentan estos marcadores y  
25 la posibilidad de poder detectar ambos alelos paternos y maternos, los hace muy útiles para

1 identificaciones individuales, ya que resulta muy poco probable que dos individuos elegidos  
2 al azar, si son analizados para una serie de marcadores, compartan todos sus alelos  
3 (Aranguren-Méndez *et al.* 2015).

4 Se han reportan que los valores PIC de los SSR son altamente informativos con un  
5 rango del 0.92-0.96 (Opoku *et al.* 2007), USDA-ARS, 2012) y Cryer *et al.* 2006). En este  
6 estudio se encontraron valores PIC de 0.42 a 0.49 y de 0.47 a 0.50 en las cruzas ICS 95 x INI  
7 1 y su craza recíproca respectivamente, estos valores diferenciales se debe básicamente al  
8 tamaño de población utilizado y el acervo genético entre el trabajo de los autores citados y el  
9 presente trabajo.

10 El análisis de 61 individuos de cacao realizado en este trabajo, provenientes de cruzas  
11 controladas y con el empleo de los SSR e ISSR ha permitido conocer su similitud genética al  
12 padre o a la madre lo cual representa un avance importante en el mejoramiento genético de  
13 cacao en México para avanzar en el proceso de obtención de híbridos para resistencia a  
14 moniliasis.

15

## 16 **CONCLUSIONES**

17 Con base en estos resultados, se considera que todos los segregantes de la población  
18 ICS 95 x INI 1 son derivados de la craza. El indicador PIC para los marcadores moleculares  
19 utilizados en el estudio de la población ICS-95 X INI-1, específicamente para los ISSR se  
20 consideraron altamente informativos ( $PIC > 0.50$ ), ya que presentan un rango del 0.71 y 0.74  
21 de información polimórfica. Mientras que los SSR se consideran como razonablemente  
22 informativos, los cuales están entre los valores 0.42 y 0.49. Con referencia la craza INI 1 x  
23 ICS 95, los individuos 306 y 259 se consideraron como autofecundaciones, ya que presentan  
24 el 92 % de similitud de su información genética con respecto a INI-1-♀; Sin embargo, el  
25 individuo 45 se descarta porque no hay razón biológica de que un individuo sea idéntico al

- 1 padre, lo cual se sugiere realizar un estudio empleando una mayor cantidad de marcadores.  
2 Con la utilización de microsátelites e ISSR fue posible identificar 58 híbridos verdaderos.

### 3 **AGRADECIMIENTOS**

4 Al CONACYT FOMIX- CCYTET y Gobierno del edo. de Tabasco a través del proyecto  
5 con clave TAB-2010-C20-144013.

### 7 **REFERENCIAS**

- 8  
9 Anderson, J.A., Churchill G.A., Autrique J.E., Tanksley S.D. & Sorrells ME. (1993).  
10 Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36:181-186.
- 11 Aranguren-Méndez, J. A., Román-Bravo R., Isea W., Villasmil Y., & Jordana J. (2015). Los  
12 microsátelites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para  
13 programas de conservación: Una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13: 30-42.
- 14 Barrón, G. Y. P., Azpeitia Morales A., López Andrade P. A., Mirafuentes-Hernández. F. 2014.  
15 Metodología adaptada para la formación de híbridos F1 de cacao (*Theobroma cacao* L.)  
16 en Tabasco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5: 765-777.
- 17  
18 Bennett, M.D. & Leitch I. J. (1997). Nuclear DNA amounts in angiosperms-583 New  
19 Estimates. *Annals of Botany* 80:169-196.
- 20  
21 Botstein, D., White R.L., Skolnick M. & Davis R.W. (1980). Construction of a genetic  
22 linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American*  
23 *Journal of Human Genetics* 32:314-331.
- 24 Chia-Wong , J.A. Garcia C. L., Suni N. M. and & Eskes B. (2011). Characterization of a  
25 *Theobroma cacao* L. collection at Tingo Maria using ISSR molecular markers. *Rev.*  
26 *Aporte Santiaguino* 4(2): 195-202.
- 27 Cryer, N.C., Fenn MGE, Turnbull C.J. & Wilkinson M.J. (2006). Allelic size standards and  
28 reference genotypes to unify international cocoa (*Theobroma cacao* L.) microsatellite  
29 data. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:1643–1652.
- 30 Debouck, D., Ebert A., Barandiarán E., & Ramírez, M. (2008). La importancia de la  
31 utilización de la diversidad genética vegetal en los programas de investigación  
32 agrícola en América Latina. *Recursos Naturales y Ambiente*, 53, 46-53.
- 33 Doyle, J.J. & Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of  
34 fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.
- 35 Gultinan, M.J. (2007). Cacao. In: Pua E.C. & Davey M.R. (Eds.) *Biotechnology in*  
36 *Agriculture and Forestry. Transgenic Crops V. Section III.2* Springer-Verlag, Berlin  
37 Heidelberg, pp. 497-518.
- 38 Hamada H., Petrino M.G. & Kakunaga T. (1982). A novel repeated element with Z-DNA-  
39 forming potential is widely found in evolutionary diverse eukaryotic

- 1 genomes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of  
2 America 79: 6465-6469.
- 3 Jaimes, Y. & Aranzazu, F. (2010). Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao*  
4 L.) en Colombia con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*) Colombia:  
5 CORPOICA, 90 p.
- 6 Jeffreys, A.J., Wilson V. and Thein S.L. (1985). Individual-specific 'finger-prints' of human  
7 DNA. Nature 316: 76-79.
- 8 Lagercrantz, U, Ellegren H and Anderson L. (1993). The abundance of various polymorphic  
9 microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. Nucleic Acids Research,  
10 21:1111-1115.
- 11 Martínez, J. W. (2016). La Variabilidad Genética del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional  
12 Boliviano, Revista Apthapi 2. 2: 80-85.
- 13 Motilal, L.A. & Boccara M. (2004). Screening and evaluation of SSR primers in gel systems  
14 for the detection of off-types in cocoa field. INGENIC Newsletter, 9:21-24.
- 15 Nuez, F. & Cárillo J.M. (2000). Los marcadores genéticos en la mejora vegetal. Editorial  
16 Universidad Politécnica de Valencia. Sociedad Española de Ciencias Hortícola. 579 p.
- 17 Opoku, S.Y., Bhattacharjee R., Kolesniko-Allen M., Motarnayor J.C., Schnell I. R.,  
18 Ingelbrecht I., Enu-Kwesi L. & Adu-Ampomah Y. (2007). Genetic Diversity in  
19 Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Germplasm Collection from Ghana. Journal of Crop  
20 Improvement, 20:39-40.
- 21 Phillips-Mora, W. Arciniegas-Leal, & Mata-Quirós A. (2012). Catálogo de clones de cacao  
22 seleccionados por el CATIE para siembras comerciales. Costa Rica: CATIE. 70 p.
- 23 Phillips-Mora, W., Aime, M.C., & Wilkinson, M.J. (2007). Biodiversity and biogeography of  
24 the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in Tropical America.  
25 Plant Pathology, 56: 911-922.
- 26 Phillips-Mora, W., Wilkinson, M.J. (2007). Frosty pod, a disease of limited geographic  
27 distribution but unlimited potential for damage. Phytopathology, 97 (12): 1644-1647.
- 28 Phillips-Mora, W., Coutiño A., Ortiz G.F. López A.P., Hernandez J. & Aime M.C. (2006).  
29 First report of *Moniliophththora roreri* causing frosty pod rot ("*moniliasis*" disease) of  
30 cocoa in México. Plant Pathology, 55: 584.
- 31 Rodríguez, L. & Medina J. (2005). Caracterización de clones de cacao por respuesta a monilia  
32 (*Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans *et al.*) en Santander. Fitopatología  
33 Colombiana, 28(2): 61-64.
- 34 Rohlf, F.J. (1997). NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system version  
35 2.1 manual. Applied Biostatistics, New York, 31 p.
- 36 Ruiz-Eraza, X., Almanza-Pinzón M., Cruz Morillo-coronado A., González A., Caicedo-  
37 Arana A., & Muñoz-Flores E. (2015). Comparación genética de tres fuentes del cacao

- 1           *Theobroma cacao* L., mediante el uso de marcadores microsátelites. *Biotecnología en*  
2           *el Sector Agropecuario y Agroindustria*,13:10-18.
- 3 Semagn, K, Bjørnstad Å & Ndjioudjop M.N. (2006). An overview of molecular marker  
4           methods for plants. *African Journal of Biotechnology* 5(25):2540-2568.
- 5 Schnell, R.J., M.A. Heath, E.S. Johnson, J.S. Brown, C.T. Olano & J.-C. Motamayor. (2004).  
6           Frequency of off-type progeny among the original ICS 1 x SCA6 reciprocal families  
7           and parental clones used for disease resistance selection in Trinidad. *INGENIC*  
8           *Newsletter* 9: 34-39.
- 9 SIAP. (2014). Servicio de información agroalimentaria y pesca-Secretaria de Agricultura,  
10           Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario estadístico de la  
11           producción agrícola. (En línea). [http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-producción-](http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-producción-agrícola-por-cultivo)  
12           *agrícola-por-cultivo*. Revisado el 05 de julio de 2016.
- 13 Skroch , P., Tivang J. & Nienhuis J. (1992). Analysis of Genetic Relationships Using RAPD  
14           Marker Data. *Joint Plant Breeding Symposia*. Crop Science Society of America -  
15           American Society for Horticultural Science - American Genetic Association.  
16           Minneapolis, Mn., p. 26-30.
- 17 Somarriba, Chávez E.; Cerda Bustillos, R.; Astorga Domian, C.; Quesada Chaverri, F. &  
18           Vásquez Morera, N. ( 2010). *Reproducción sexual del cacao*. Costa Rica: CATIE. 48  
19           p.
- 20 Suárez, C. C. (1982). El problema de la moniliasis y su combate en el Ecuador. In: Enríquez,  
21           G. A. Ed. *La moniliasis de cacao*. CATIE, Serie Técnica. pp. 70-78.
- 22 Turnbull, C.J., Butler, D.R., Cryer, N.C., Zhang, D., Lanaud, C., Daymond, A.J., Ford, C.S.,  
23           Wilkinson, M.J. & Hadley, P. (2004) Tackling mislabeling in cocoa germplasm  
24           collections. *INGENIC*, 9: 8-11.
- 25 USDA-ARS. (2012). United States Department of Agriculture – Agricultural Research  
26           Service [en línea] [www.chocolatecortes.com/pr/wp-content/uploads/.../gen-germo-](http://www.chocolatecortes.com/pr/wp-content/uploads/.../gen-germo-cacao.pdf)  
27           *cacao.pdf*. Fecha de consulta: Noviembre 2012.
- 28 Victoria, F.C., Da Maia LC & De Olivera A.C. (2011). In silico comparative analysis of SSR  
29           markers in plants. *BMC Plant Biology*, 11:15.
- 30 Wang, M.L., Barkley N.A. & Jenkins T.M. (2009). Microsatellite Markers in Plants and  
31           Insects. Part I: Applications of Biotechnology. *Genes, Genomes and Genomics*, 3: 54-  
32           67.
- 33 Wang, Z., Weber J.L., Zhong G. & Tanksley S. (1994). Survey of plant short tandem DNA  
34           repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 88 (1):1-6.
- 35 Warburton, M & Crossa J. (2002). Data analysis in the CIMMYT applied biotechnology  
36           center for fingerprinting and genetic diversity studies. *CIMMYT*, México. p 5.
- 37 Zhang, D., Mischke S., Johnson E. S., Phillips-Mora W. and Meinhardt L. (2009). Molecular  
38           characterization of an international cacao collection using microsatellite markers. *Tree*  
39           *Genetics & Genomes*, 5:1–10.

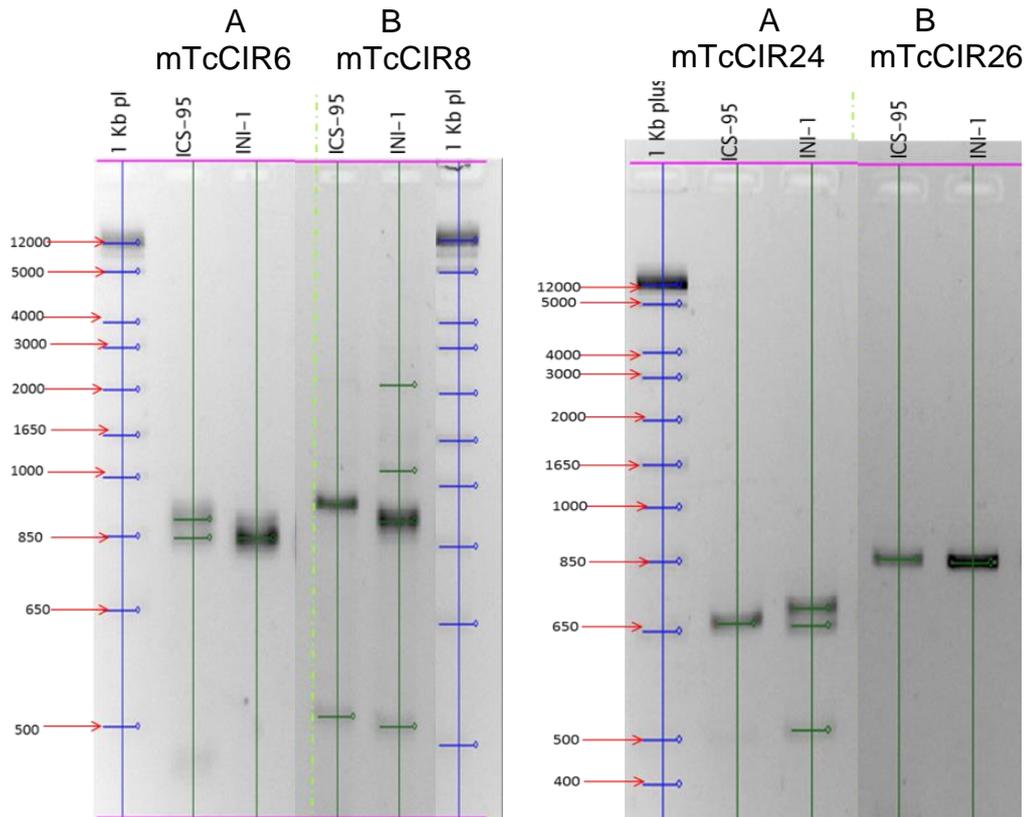
1 Zietkiewicz, E, Rafalski A, & Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence  
2 repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 176-  
3 183.  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48

1 **Tabla 1.** Lista de los SSR e ISSR utilizados para el estudio molecular de las cruzas de  
 2 *Theobroma cacao* L. Fuente: Elaboración propia.

Marcador	Nombre	Pb	Número de		Cita
			Alelos	PIC	
<b>SSR</b>	mTcCIR8	288-304	6	0.92	USDA-ARS, 2012
<b>SSR</b>	mTcCIR24	185-203	7	0.95	Cryer <i>et al.</i> 2006
<b>SSR</b>	mTcCIR6	222-247	9	0.96	Opoku <i>et al.</i> 2007
<b>SSR</b>	mTcCIR26	272 – 308	8	0.85	Martínez, 2007
<b>ISSR</b>	UBC829				Chia-Wong <i>et al.</i> 2011
<b>ISSR</b>	UBC830				Chia-Wong <i>et al.</i> 2011
<b>ISSR</b>	UBC835				Chia-Wong <i>et al.</i> 2011
<b>ISSR</b>	UBC841				Chia-Wong <i>et al.</i> 2011

3  
 4  
 5  
 6  
 7  
 8  
 9  
 10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15  
 16  
 17  
 18  
 19  
 20  
 21  
 22  
 23  
 24  
 25

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45



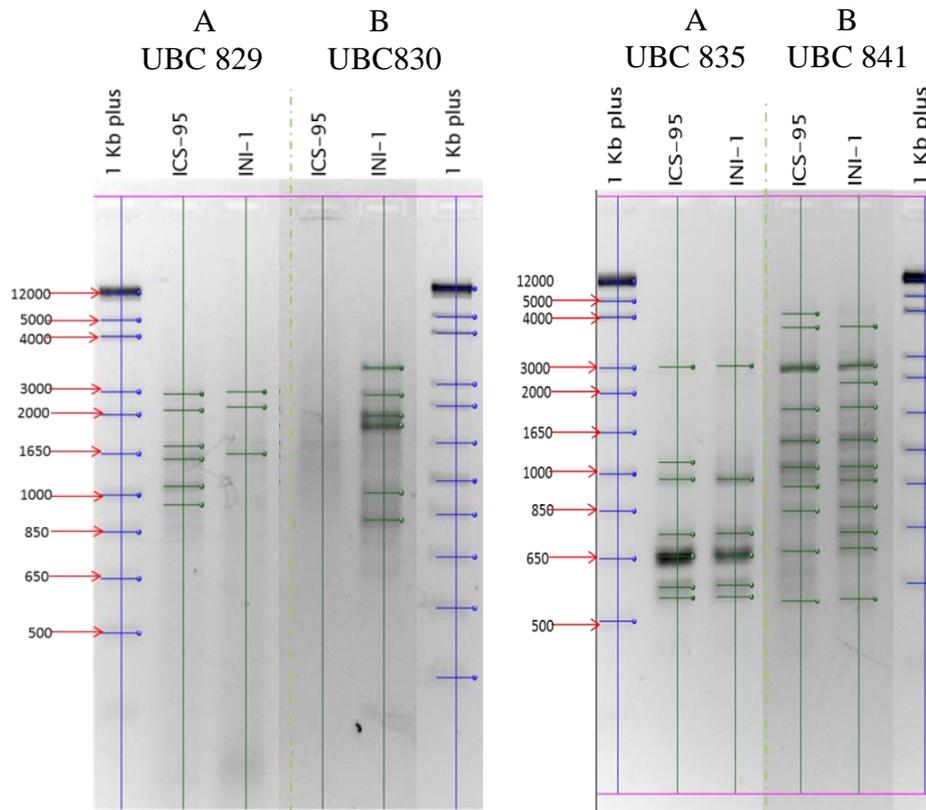
**Figura 1.** Imagen de los geles con la amplificación de los progenitores con los microsatélites mTcCIR 6 (A) y mTcCIR 8 (B) en la parte izquierda y la amplificación de los progenitores con los microsatélites mTcCIR 24 (A) y mTcCIR 26 (B) en la parte derecha. En cada carril se cargó 17  $\mu$ L de PCR de cada progenitor. Se corrió a 160 volts en buffer SB 1X. En el primer carril se observa la escala de tamaños en pares de base del marcador de peso 1 KB plus. Fuente: Elaboración propia.

1 Tabla 2. Pesos moleculares de los alelos de los progenitores en mTcCIR 6 (A),  
 2 mTcCIR 8 (B), mTcCIR 24 (A) y mTcCIR 26 (B). Los pesos moleculares marcados  
 3 con \* son alelos polimórficos. Fuente: Elaboración propia.  
 4  
 5

Marcador	Genotipos	
	ICS-95	INI-1
mTcCIR 6	905* 857*	857*
mTcCIR 8	943* 524	2169 1166 902* 513
mTcCIR 24	670*	710* 660*
mTcCIR 26	860	850

6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37



**Figura 2.** Imagen de gel con la amplificación de los progenitores con los ISSR UBC 829 (A) y UBC 830 (B) en la parte izquierda y en la parte derecha se observa la imagen con los ISSR UBC 835 (A) y UBC 841 (B). En cada carril se cargó 17  $\mu$ L de PCR de cada progenitor. Se corrió a 160 volt en buffer SB 1X. En el primer carril se observa la escala de tamaños en pares de base del marcador de peso 1 KB plus. Fuente: Elaboración propia.

1 **Tabla 3.** Peso molecular de los alelos de los progenitores en UBC 829, UBC 830, UBC 835 y  
 2 UBC 841. Los pesos moleculares marcados con \* son alelos polimórficos. Fuente:  
 3 Elaboración propia.  
 4

Genotipo	Marcador (Pb)				
	UBC 829	UBC 830	UBC 835	UBC 841	UBC 841
ICS-95	2725.1*	-	2761.4*	4081.5	4081.5
	2088.3*	-	1064.4	3718.2	3718.2
	1666.2*	-	921*	2722.2*	2722.2*
	1475.5*	-	691.8*	1770.4*	1770.4*
	1053.5	-	611.8*	1333.4*	1333.4*
	927.1	-	582.1	1005*	1005*
			556.6	891.3*	891.3*
				786.8	786.8
				635.8	635.8
				548.1	548.1
Inifap 1 (INI 1)	2833.3*	3380.2*	2800.5*	3742.4	3742.4
	2152.2*	2671.1*	921*	2800.5*	2800.5*
	1555.6*	1949.5*	695.8*	2191	2191
		1862*	619.8*	1792.4*	1792.4*
		992.3	587.7	1353.2*	1353.2*
		860.3	559.4	1016.9*	1016.9*
				916.1*	916.1*
				806.7	806.7
				699.8	699.8
				643.8	643.8
			553.8	553.8	

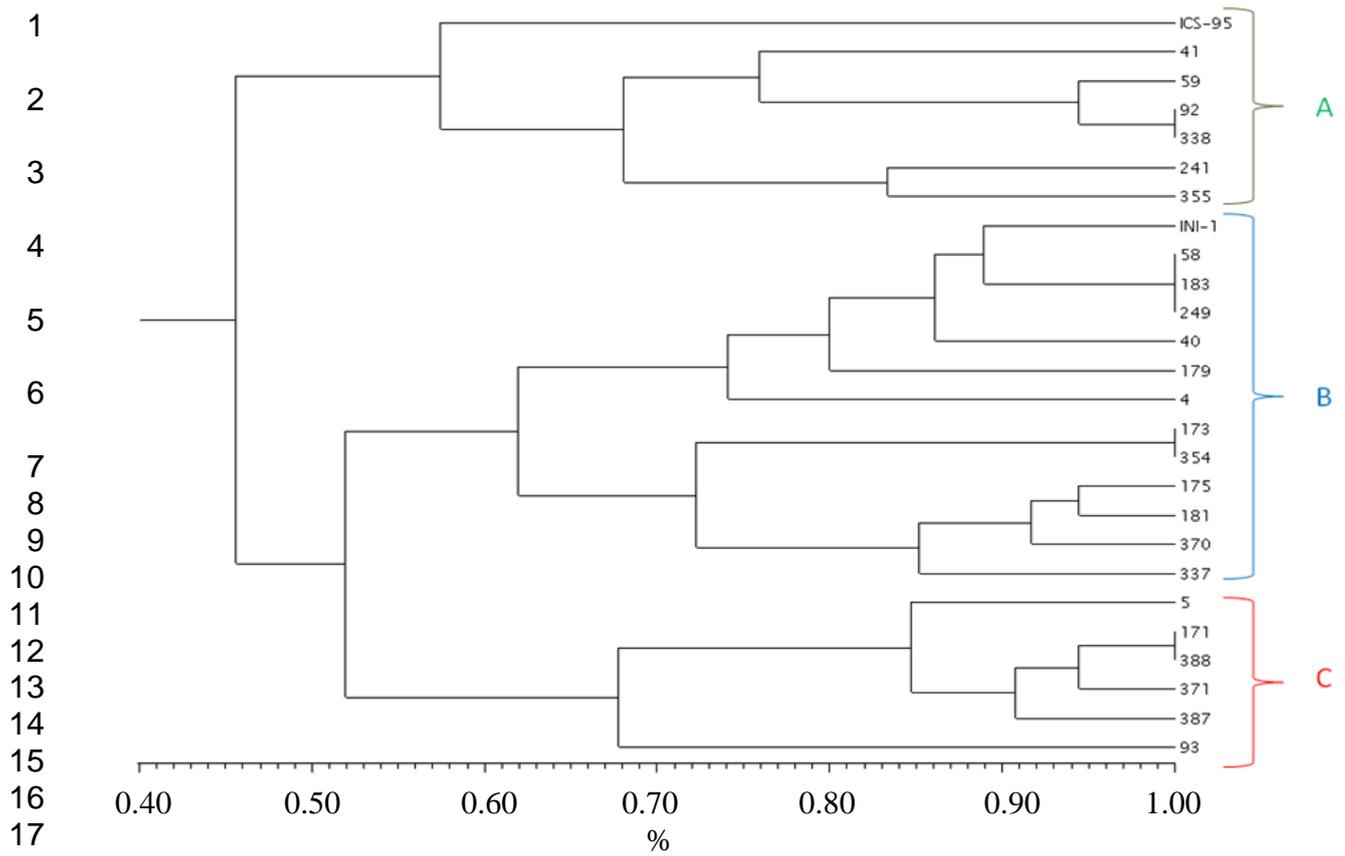
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13

1 **Tabla 4.** Valores PIC de los marcadores en cada población de *Theobroma cacao* L. Fuente:  
2 Elaboración propia.

3

Población	Marcador						
	mTcCIR 6	mTcCIR 8	mTcCIR 24	UBC 829	UBC 830	UBC 835	UBC 841
ICS-95 X INI-1	0.42	0.49	0.48	0.73		0.74	0.71
INI-1 X ICS-95	0.47	0.50	0.47	0.87		0.75	0.83

4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24



**Figura 3.** Dendrograma de similitud genética de la población ICS-95 X INI-1. Fuente: Elaboración propia.

16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43

1 Tabla 5. Matriz de similitud en híbridos procedentes de la cruce ICS-95 X INI-1. Fuente:  
 2 Elaboración propia.

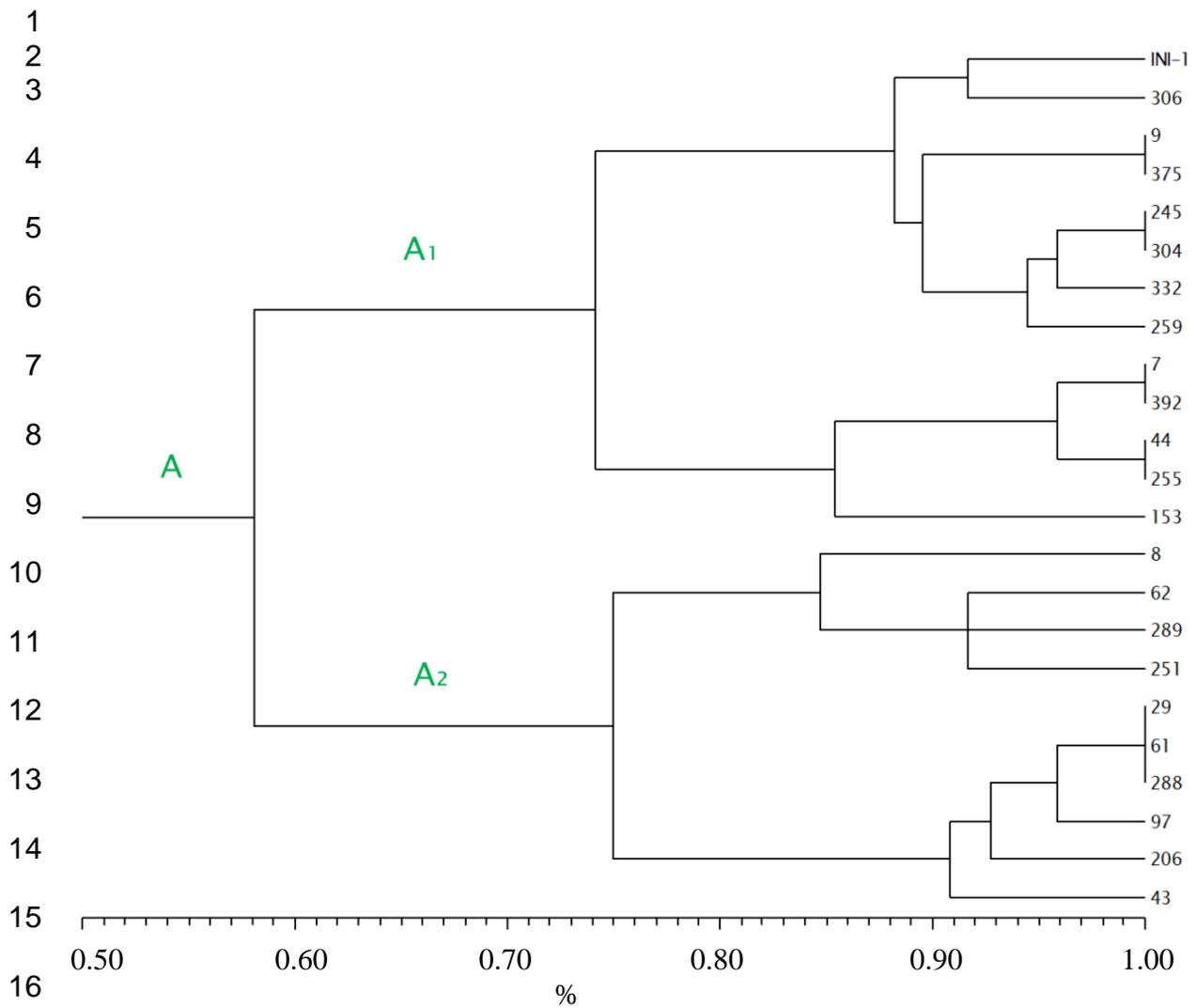
3  
 4  
 5

Hibrido	Índice de similitud genética		Grupo de similitud		
	ICS 95	INIFAP 1	ICS 95	INIFAP 1	
4	0.28	0.83		B	
5	0.56	0.56		B	C
40	0.33	0.78		B	
41	0.56	0.56		B	
58	0.22	0.89		B	
59	0.50	0.61	A		
92	0.56	0.56	A		
93	0.56	0.56		B	C
171	0.39	0.72		B	C
173	0.67	0.44		B	
175	0.39	0.61		B	
179	0.11	0.89		B	
181	0.44	0.67		B	
183	0.22	0.89		B	
241	0.72	0.39	A		
249	0.22	0.89		B	
337	0.33	0.78		B	
338	0.56	0.56	A		
354	0.67	0.44		B	
355	0.56	0.56	A		
370	0.50	0.61		B	
371	0.44	0.67		B	C
387	0.39	0.72		B	C
388	0.39	0.72		B	C

6  
 7  
 8  
 9  
 10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15

1 **Tabla 6.** Valores PIC de los marcadores utilizados en la población ICS-95 X INI-1. Fuente:  
2 Elaboración propia.

<b>Población</b>	<b>Marcador</b>	<b>PIC</b>
ICS-95 X INI-1	mTcCIR 6	0.42
	mTcCIR 8	0.49
	mTcCIR 24	0.48
	UBC 829	0.73
	UBC 835	0.74
	UBC 841	0.71



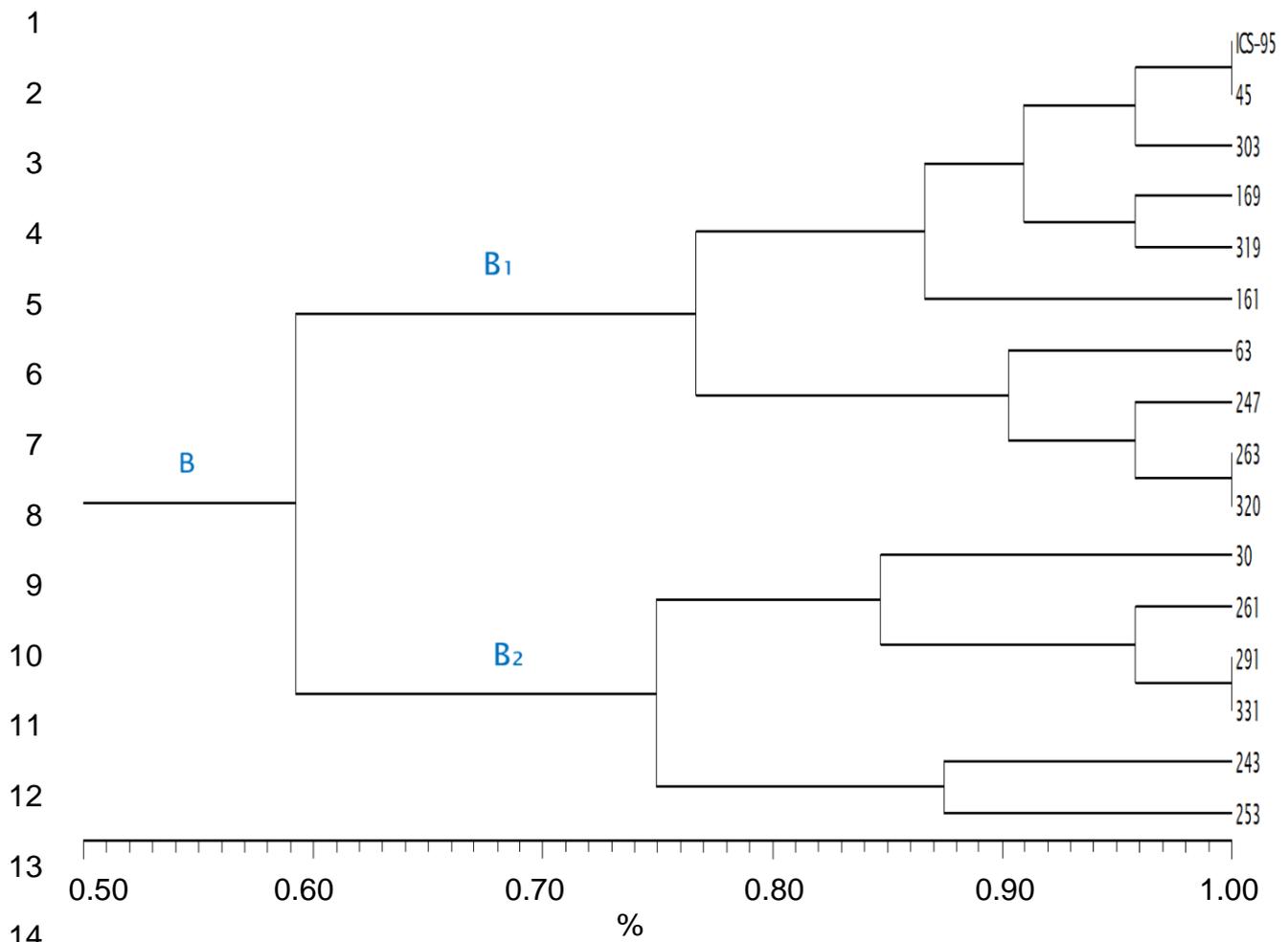
17 **Figura 4.** Dendrograma de similitud genética del grupo A en la población INI-1 X ICS-95.  
 18 Fuente: Elaboración propia.

19  
 20

21  
 22  
 23  
 24  
 25  
 26  
 27  
 28  
 29  
 30  
 31  
 32  
 33  
 34  
 35

**Tabla 7.** Matriz de similitud genética del grupo A (A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>) y B (B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>) en la población INI-1 X ICS-95. Fuente: Elaboración propia.

A					
A <sub>1</sub>			A <sub>2</sub>		
Individuo	INI-1 (%)	ICS-95 (%)	Individuo	INI-1 (%)	ICS-95 (%)
7	0.75	0.29	8	0.71	0.33
9	0.83	0.21	29	0.50	0.54
44	0.71	0.33	43	0.50	0.54
153	0.71	0.33	61	0.50	0.54
245	0.88	0.17	62	0.58	0.46
255	0.71	0.33	97	0.46	0.58
259	0.92	0.13	206	0.42	0.63
304	0.88	0.17	251	0.58	0.46
306	0.92	0.13	288	0.50	0.54
332	0.83	0.21	289	0.67	0.38
375	0.83	0.21			
392	0.75	0.29			
B					
B <sub>1</sub>			B <sub>2</sub>		
45	0.04	1.00	30	0.38	0.67
63	0.21	0.83	253	0.58	0.46
161	0.21	0.83	261	0.33	0.71
169	0.08	0.88	291	0.38	0.67
243	0.46	0.58	320	0.29	0.75
247	0.33	0.71	331	0.38	0.67
263	0.29	0.75			
303	0.08	0.96	autofec		
319	0.13	0.92	autofec		



**Figura 5.** Dendrograma de similitud genética del grupo B en la población INI-1 X ICS-95.  
Fuente: Elaboración propia.

15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36

1 **Tabla 8.** Valores PIC de los marcadores utilizados en la población INI-1 X ICS-95. Fuente:  
2 Elaboración propia.  
3  
4

<b>Población</b>	<b>Marcador</b>	<b>PIC</b>
INI-1 X ICS-95	mTcCIR 6	0.47
	mTcCIR 8	0.50
	mTcCIR 24	0.47
	UBC 829	0.87
	UBC 835	0.75
	UBC 841	0.83

10  
11  
12  
13  
14  
15