



**AVANCE EN EL USO DE  
MARCADORES MOLECULARES  
EN LA COOPERATIVA DE  
MEJORAMIENTO GENÉTICO  
FORESTAL GENFORES**

*Fabiana Rojas  
Olman Murillo*

# ÍNDICE

1

- GENFORES
- Especies

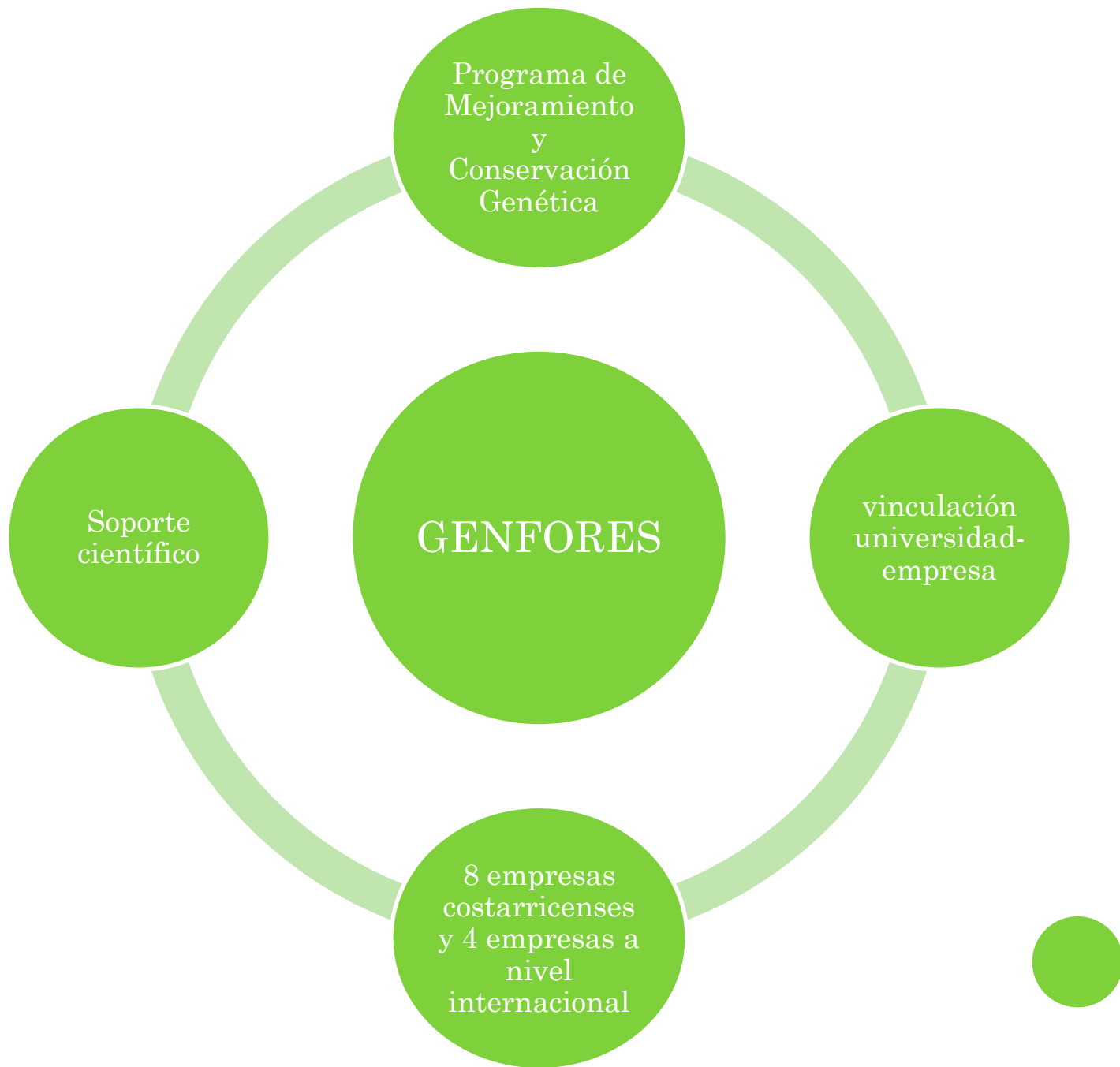
2

- Aplicaciones marcadores moleculares

3

- Grado de avance 2 especies





# ESPECIES



## Exóticas

- *Gmelina arborea*
- *Tectona grandis*
- *Acacia mangium*



## Nativas

- *Vochysia guatemalensis*
- *Hieronyma alchorneoides*
- *Dipteryx panamensis*



# APLICACIONES MARCADORES GENÉTICOS

- Variación genética dentro y entre poblaciones
- Determinación grado de parentesco
- Verificación pureza jardines clonales y huertos semilleros
- Huella genética
- Posibilidad selección temprana



# GRADO DE AVANCE

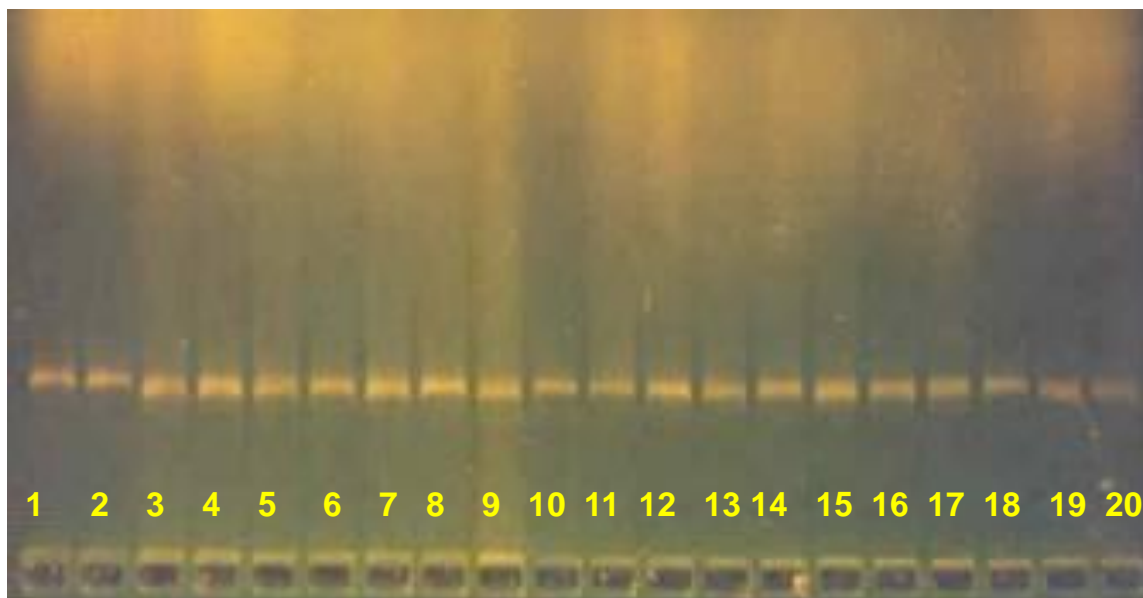
- Extracción de ácidos nucleicos totales (ANT)
- Validación de la amplificación
- Huella genética
- Diversidad genética, grado de parentesco



# EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS

## 1) *Vochysia guatemalensis*

Material vegetal



**Figura 1.** Ácidos nucleicos totales para 20 muestras de *V. guatemalensis*. Gel de agarosa al 1%.



# TAMAÑO ALELOS DETECTADOS

## 1) *Vochysia guatemalensis*



| Locus     | Tamaño de cada alelo (pares de bases) |     |     |     |     |     |     | Promedio |
|-----------|---------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|
|           | 1                                     | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   |          |
| A1-20 (A) | 140                                   | 144 | 149 | 155 | 160 | 175 | 178 | 157      |
| A1-5 (B)  | 131                                   | 135 | 139 | 147 | 152 | -   | -   | 140      |
| A1-15 (C) | 97                                    | 102 | 110 | 116 | 119 | 122 | 124 | 112      |
| A1-35 (D) | 160                                   | 169 | 172 | 175 | 178 | 184 | -   | 173      |



Locus



| Rameto | A1-20 (A) |   | A1-5 (B) |   | A1-15 (C) |   | A1-35 (D) |   |
|--------|-----------|---|----------|---|-----------|---|-----------|---|
| 102-3  | 2         | 2 | 1        | 1 | 1         | 1 | -         | - |
|        | 2         | 2 | 1        | 1 | 1         | 1 | -         | - |
| 33-1   | 2         | 2 | 1        | 2 | 1         | 2 | -         | - |
|        | -         | - | 1        | 2 | 1         | 2 | -         | - |
| 41-3   | 1         | 1 | 1        | 1 | 1         | 4 | 2         | 2 |
|        | 1         | 1 | 1        | 1 | 1         | 4 | 2         | 2 |
| 101-3  | -         | - | -        | - | 1         | 2 | 2         | 2 |
|        | 1         | 1 | -        | - | 1         | 2 | 2         | 2 |
| 200-4  | 2         | 2 | 2        | 2 | 1         | 3 | -         | - |
|        | 2         | 2 | 2        | 2 | 1         | 3 | -         | - |
| 104-4  | 1         | 3 | 1        | 1 | 1         | 1 | 3         | 3 |
|        | 1         | 3 | 1        | 1 | 1         | 1 | 3         | 3 |
| 120-6  | 3         | 4 | 1        | 2 | 1         | 3 | 2         | 2 |
|        | 3         | 4 | 1        | 2 | 1         | 3 | 2         | 2 |
| 39-3   | 1         | 3 | 2        | 2 | 1         | 1 | 4         | 4 |
|        | 1         | 3 | -        | - | 1         | 1 | 4         | 4 |
| 19-8   | 2         | 2 | 2        | 2 | 1         | 2 | 1         | 3 |
|        | 2         | 2 | -        | - | 1         | 2 | 1         | 1 |
| 103-7  | 1         | 1 | 2        | 2 | 1         | 2 | 4         | 4 |
|        | 1         | 1 | 2        | 2 | 1         | 2 | 4         | 4 |

VALIDACIÓN  
DE LA  
AMPLIFICACIÓN  
*V. guatemalensis*



# HUELLA GENÉTICA

*V. guatemalensis*

| Clon  | Locus A1-20 |    | Locus A1-15 |    |
|-------|-------------|----|-------------|----|
| 19-1  | A3          | A3 | C1          | C3 |
| 19-4  | A4          | A4 | C4          | C5 |
| 19-6  | A3          | A3 | C1          | C3 |
| 19-7  | A3          | A3 | C1          | C3 |
| 19-8  | A4          | A4 | C1          | C3 |
| 30-1  | A1          | A3 | C1          | C2 |
| 36-1  | A2          | A2 | C1          | C7 |
| 39-1  | A4          | A4 | C4          | C5 |
| 39-2  | A3          | A3 | C1          | C5 |
| 41-2  | A2          | A4 | C4          | C7 |
| 41-4  | A7          | A7 | C1          | C1 |
| 101-1 | A2          | A2 | C1          | C5 |
| 101-2 | A2          | A2 | C3          | C4 |
| 101-3 | A7          | A7 | C1          | C5 |
| 101-4 | A2          | A2 | C1          | C1 |
| 101-6 | A4          | A5 | C1          | C5 |
| 101-8 | A6          | A6 | C1          | C5 |
| 102-5 | A4          | A4 | C4          | C4 |
| 103-1 | A2          | A2 | C1          | C3 |
| 103-2 | A6          | A6 | C2          | C3 |
| 103-4 | A7          | A7 | C1          | C3 |
| 104-1 | A3          | A3 | C1          | C3 |
| 104-2 | A2          | A4 | C4          | C4 |
| 104-5 | A6          | A6 | C1          | C6 |
| 119-1 | A1          | A3 | C3          | C3 |
| 119-2 | A1          | A3 | C1          | C5 |
| 120-1 | A5          | A5 | C1          | C1 |
| 120-3 | A7          | A5 | C1          | C3 |
| 120-4 | A6          | A6 | C1          | C1 |
| 120-5 | A6          | A6 | C1          | C3 |
| 120-8 | A7          | A7 | C1          | C6 |
| 200-2 | A6          | A6 | C1          | C5 |
| 200-4 | A3          | A3 | C1          | C1 |



# 1) *Vochysia guatemalensis*

- Frecuencias alélicas y polimorfismo

| Alelo | Frecuencias Alélicas          |                               |
|-------|-------------------------------|-------------------------------|
|       | Locus A<br>(Imprimador A1-20) | Locus C<br>(Imprimador A1-15) |
| 1     | 0,05                          | 0,45                          |
| 2     | 0,18                          | 0,03                          |
| 3     | 0,23                          | 0,20                          |
| 4     | 0,17                          | 0,12                          |
| 5     | 0,06                          | 0,14                          |
| 6     | 0,18                          | 0,03                          |
| 7     | 0,14                          | 0,03                          |

$CIP_j = 1 - (\sum p_i^2)$ , donde  $p_i$  es la frecuencia  $i$  de cada uno de los alelos registrados en un locus  $j$

**Promedio: 0,77**



# 1) *Vochysia guatemalensis*

- Diversidad genética:

$v_j = (\sum p_i^2)^{-1}$ , donde  $p_i$  es la frecuencia  $i$  de cada uno de los alelos en cada locus  $j$  analizado

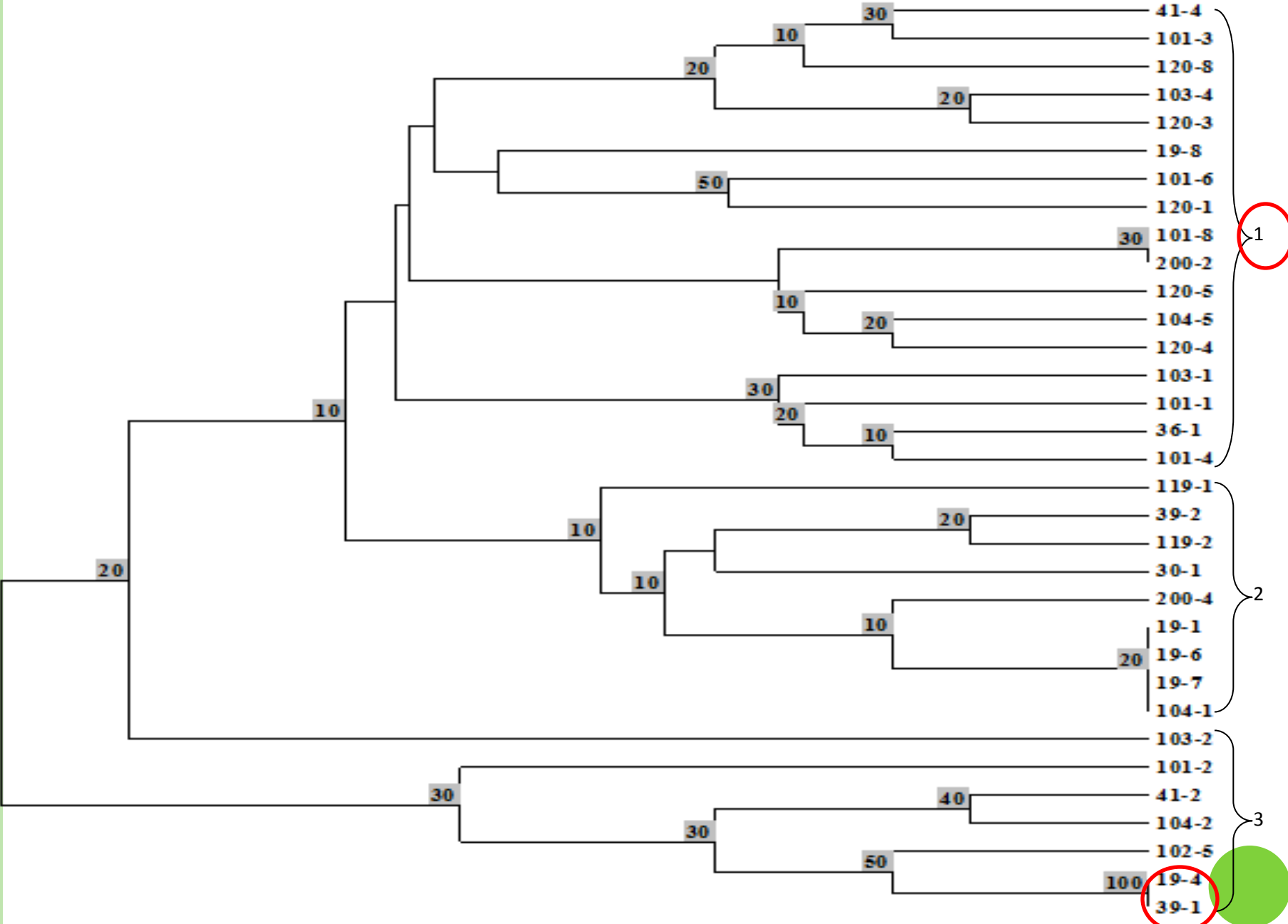
Locus A (imprimador A1-20) fue 5,89

Locus C (imprimador A1-15) de 3,55

- Distancia genética:

Donde,  $\frac{1}{j} * (\text{No. alelos comunes} / 2)$ ,  $j$  es el número total de loci investigados.





**Figura 3.** Dendrograma UPGMA basado en la distancia genética de 33 clones de *V. guatemalensis* con los loci A1-20 y A1-15.

# 1) *Vochysia guatemalensis*

- Probabilidad de ocurrencia, apareo y poder de discriminación

Probabilidad de ocurrencia en la población de cada uno de los 49 posibles genotipos para el locus A (A1-20)

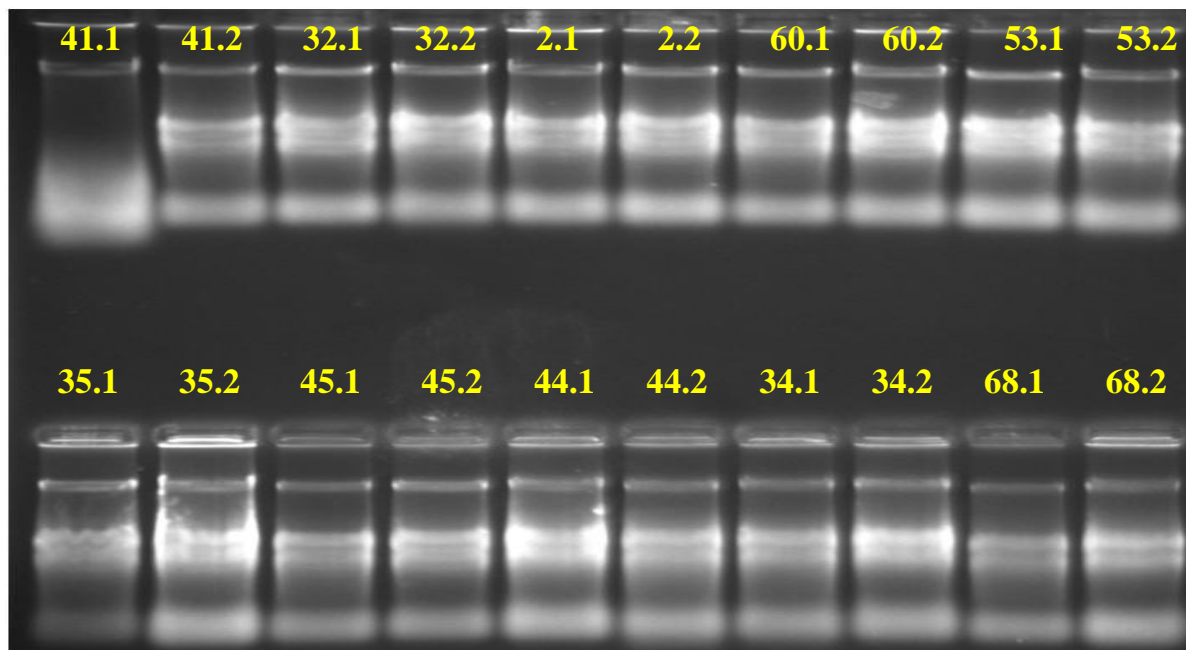
|   |      | 1      | 2      | 3             | 4      | 5      | 6      | 7      |
|---|------|--------|--------|---------------|--------|--------|--------|--------|
|   |      | 0,05   | 0,18   | 0,23          | 0,17   | 0,06   | 0,18   | 0,14   |
| 1 | 0,05 | 0,0025 | 0,0090 | 0,0115        | 0,0085 | 0,0030 | 0,0090 | 0,0070 |
| 2 | 0,18 | 0,0090 | 0,0324 | 0,0414        | 0,0306 | 0,0108 | 0,0324 | 0,0252 |
| 3 | 0,23 | 0,0115 | 0,0414 | <b>0,0529</b> | 0,0391 | 0,0138 | 0,0414 | 0,0322 |
| 4 | 0,17 | 0,0085 | 0,0306 | 0,0391        | 0,0289 | 0,0102 | 0,0306 | 0,0238 |
| 5 | 0,06 | 0,0030 | 0,0108 | 0,0138        | 0,0102 | 0,0036 | 0,0108 | 0,0084 |
| 6 | 0,18 | 0,0090 | 0,0324 | 0,0414        | 0,0306 | 0,0108 | 0,0324 | 0,0252 |
| 7 | 0,14 | 0,0070 | 0,0252 | 0,0322        | 0,0238 | 0,0084 | 0,0252 | 0,0196 |

Genotipo  $A_3A_3C_1C_3$  : 0,0047; genotipo  $A_4A_4C_4C_5$  : 0,0004; genotipo  $A_6A_6C_1C_5$  : 0,0020

# EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS

## 2) *Tectona grandis*

Material vegetal



**Figura 2.** Ácidos nucleicos totales para 10 clones de la colección clonal perteneciente a la Escuela de Ingeniería Forestal, ITCR. Gel de agarosa al 0,8%.



| Rameto | Locus A11 |   | Locus B02 |          | Locus C03 |          |
|--------|-----------|---|-----------|----------|-----------|----------|
| 35     | 1         | 1 | 1         | 1        | 1         | 3        |
|        | 1         | 1 | 1         | 1        | 1         | 3        |
| 45     | 1         | 1 | 1         | 1        | 1         | 3        |
|        | 1         | 1 | 1         | 1        | 1         | 3        |
| 44     | 1         | 1 | 2         | 4        | 3         | 3        |
|        | 1         | 1 | 2         | 4        | 3         | 3        |
| 68     | 1         | 1 | 1         | 4        | 3         | 3        |
|        | 1         | 1 | 1         | 4        | 4         | 4        |
| 34     | 1         | 1 | 1         | 4        | 1         | 4        |
|        | 1         | 1 | 1         | 4        | 1         | 4        |
| 41     | 1         | 1 | <b>1</b>  | <b>1</b> | <b>1</b>  | <b>1</b> |
|        | 2         | 2 | <b>1</b>  | <b>4</b> | <b>1</b>  | <b>3</b> |
| 32     | 1         | 1 | <b>4</b>  | <b>4</b> | <b>2</b>  | <b>3</b> |
|        | 2         | 2 | <b>1</b>  | <b>4</b> | <b>1</b>  | <b>3</b> |
| 60     | 2         | 2 | 1         | 4        | <b>1</b>  | <b>3</b> |
|        | 1         | 1 | 1         | 4        | <b>4</b>  | <b>4</b> |
| 2      | 2         | 2 | 1         | 4        | 2         | 2        |
|        | 2         | 2 | 1         | 4        | 3         | 3        |
| 53     | 1         | 1 | 3         | 4        | 2         | 3        |
|        | 1         | 1 | 3         | 4        | 2         | 3        |



VALIDACIÓN  
DE LA  
AMPLIFICACIÓN  
*T. grandis*





## HUELLA GENÉTICA *T. grandis*

| Clon      | Locus A06 |     | Locus B02 |     | Locus C03 |     | Locus F05 |     | Locus F01 |     | Locus A11 |     | Locus AC28 |     | Locus AC01 |     |
|-----------|-----------|-----|-----------|-----|-----------|-----|-----------|-----|-----------|-----|-----------|-----|------------|-----|------------|-----|
|           |           |     |           |     |           |     |           |     |           |     |           |     |            |     |            |     |
| <b>1</b>  | 191       | 191 | 221       | 221 | 313       | 313 | 256       | 256 | 222       | 243 | 269       | 269 | 220        | 220 | 248        | 248 |
| <b>2</b>  | -         | -   | 221       | 221 | 268       | 313 | 256       | 256 | 240       | 240 | 279       | 279 | 198        | 220 | 248        | 248 |
| <b>4</b>  | 191       | 191 | 221       | 221 | 263       | 313 | 256       | 256 | -         | -   | 279       | 279 | 198        | 220 | 248        | 248 |
| <b>6</b>  | 191       | 191 | -         | -   | 268       | 313 | 256       | 280 | 222       | 222 | 269       | 269 | 220        | 220 | 248        | 248 |
| <b>8</b>  | 191       | 191 | 208       | 221 | 268       | 268 | 256       | 280 | 222       | 222 | 275       | 275 | 210        | 210 | 248        | 248 |
| <b>9</b>  | 191       | 191 | 221       | 221 | 268       | 313 | 238       | 256 | 222       | 222 | 279       | 279 | 198        | 220 | 213        | 248 |
| <b>10</b> | 191       | 191 | 221       | 221 | -         |     | 238       | 256 | 233       | 233 | 262       | 275 | 198        | 220 | 213        | 248 |
| <b>11</b> | 180       | 197 | 221       | 221 | 268       | 313 | 238       | 256 | 222       | 222 | -         | -   | 198        | 220 | 248        | 248 |
| <b>12</b> | -         | -   | -         | -   | 268       | 268 | 238       | 256 | 222       | 222 | 275       | 275 | 220        | 220 | 248        | 248 |
| <b>13</b> | 191       | 191 | 221       | 221 | 268       | 268 | 238       | 256 | 233       | 233 | 283       | 283 | 198        | 220 | 213        | 248 |
| <b>14</b> | 178       | 191 | 221       | 221 | -         | -   | 238       | 256 | 222       | 222 | 269       | 269 | 220        | 220 | 248        | 248 |

GRACIAS!!!!

