

Avances en el mejoramiento genético de la caña de azúcar mediante el uso de marcadores moleculares



Dra. Hilda Victoria Silva Rojas
16 de noviembre de 2017

CONTENIDO

- Introducción al Proyecto
- I Parte: Selección de clones para la extracción de DNA y genotipificación mediante marcadores DArT (Diversity Array Technology)
- II Parte: Análisis de datos genómicos



I Parte: Selección de clones para la extracción de DNA y genotipificación mediante marcadores DArT (Diversity Array Technology)

INTRODUCCIÓN

Se siembra en:

15 estados

2015/2016

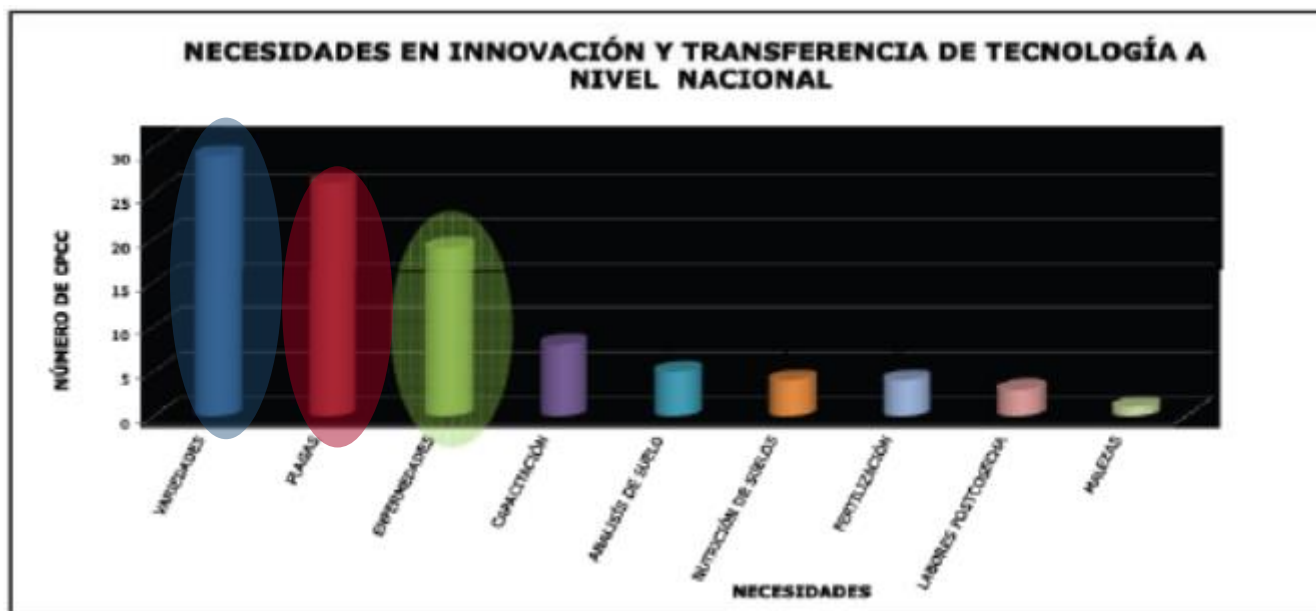
778,922 ha

(CONADESUCA, 2016).



INTRODUCCIÓN

COMITÉ NACIONAL PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE DE LA CAÑA DE AZÚCAR



CONADESUCA, 2011

INTRODUCCIÓN

El Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar AC.



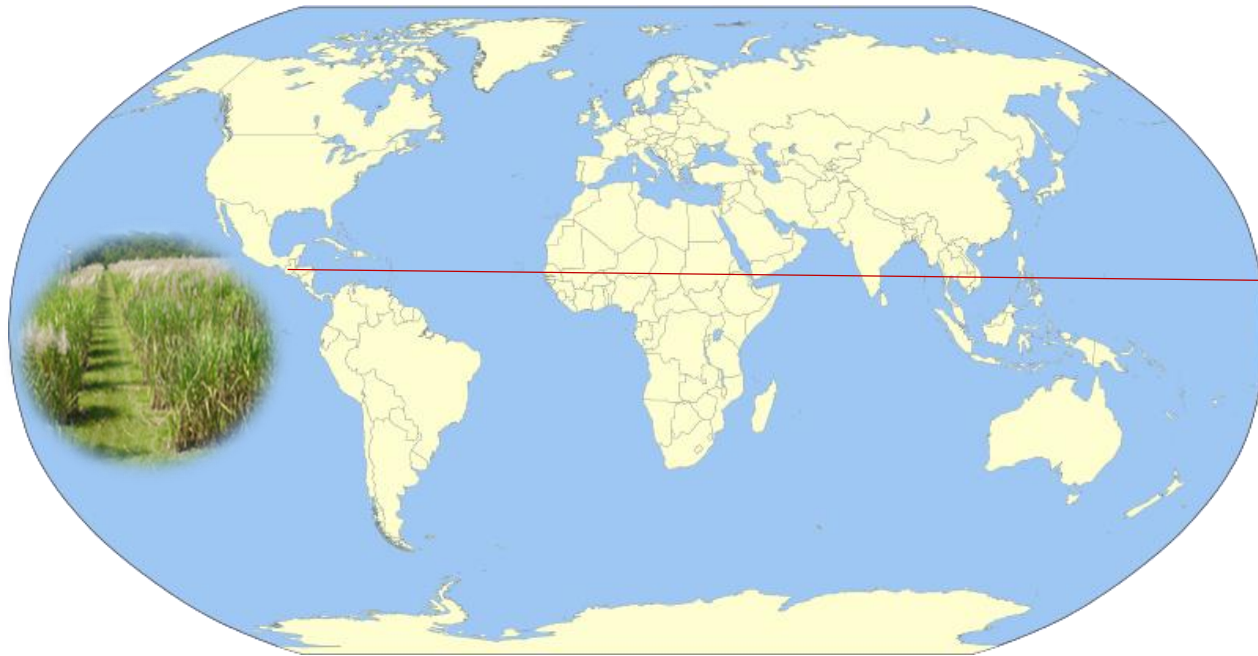
INTRODUCCIÓN



14° 57' 7" Latitud Norte 92° 9' 18" Longitud Oeste

INTRODUCCIÓN

Estación de hibridación de caña de azúcar, cuenta con un clima cálido subhúmedo y temperatura promedio anual de 25°C.



Ubicación geográfica de la Estación de Hibridación es estratégica a nivel mundial para realizar los cruzamientos

INTRODUCCIÓN



El banco de germoplasma cuenta con más de 2,768 accesiones de las cuales aproximadamente 1,200 son considerados en el programa anual de cruzamiento.

INTRODUCCIÓN

Objetivo

Desarrollar, coordinar y/o evaluar proyectos de investigación científica en caña de azúcar y su transferencia tecnológica para otorgar mayor competitividad y rentabilidad a la agroindustria azucarera nacional, principalmente a través del desarrollo de nuevas variedades de caña de azúcar.

INTRODUCCIÓN

Mejoramiento genético convencional

Mediante el apareamiento biparental o multiparental de individuos con sexo diferentes

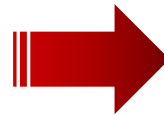


INTRODUCCIÓN

Semilla asexual

Semilla sexual o fuzz

Enviada a los Campos Experimentales Regionales, para evaluar su calidad y el posterior establecimiento de las siguientes fases de selección.



INTRODUCCIÓN



Plantas con alto contenido de sacarosa

Rendimiento superior a 100 t ha^{-1}

Resistente a plagas y enfermedades

Resistente a estrés por sequía e inundaciones

Resistentes al acame

Adaptabilidad a diferente altitud

Entre otras

INTRODUCCIÓN

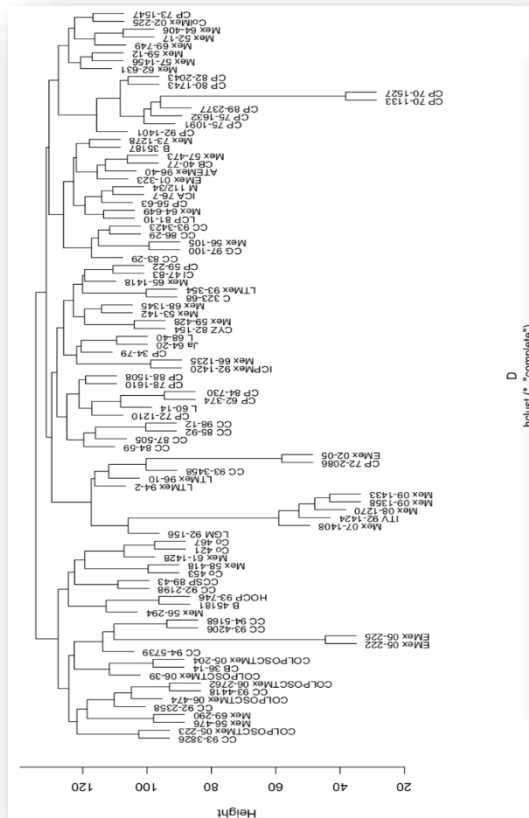


Variedad ITV 92-1424

Susceptible a
Xanthomonas vasicola
pv. *vasculorum*

PROBLEMÁTICA

Se requiere conocer las distancias genéticas que existe entre los diferentes clones de caña de azúcar, como una herramienta para dirección el programa anual de cruzamientos



Mejoramiento genético de la caña de azúcar mediante el uso de marcadores moleculares



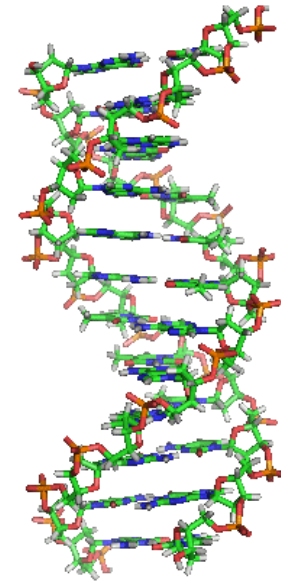
INTRODUCCIÓN

Objetivo General

Establecer las bases moleculares para la genotipificación de plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbridos) que permitan iniciar el programa de mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares en la Estación de Hibridación del CIDCA, A.C. en México.

INTRODUCCIÓN

Proyecto.....
Selección del tipo de
marcador



INTRODUCCIÓN

Aitken et al. *BMC Genomics* 2014, **15**:152
<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/15/152>



RESEARCH ARTICLE

Open Access

A comprehensive genetic map of sugarcane that provides enhanced map coverage and integrates high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers

Karen S Aitken^{1*}, Meredith D McNeil¹, Scott Hermann², Peter C Bundock³, Andrzej Kilian⁴, Katarzyna Heller-Uszynska⁴, Robert J Henry⁵ and Jingchuan Li¹

Abstract

Background: Sugarcane genetic mapping has lagged behind other crops due to its complex autopolyploid genome structure. Modern sugarcane cultivars have from 110-120 chromosomes and are in general interspecific hybrids between two species with different basic chromosome numbers: *Saccharum officinarum* ($2n = 80$) with a basic chromosome number of 10 and *S. spontaneum* ($2n = 40-128$) with a basic chromosome number of 8. The first maps that were constructed utilised the single dose (SD) markers generated using RFLP, more recent maps generated using AFLP and SSRs provided at most 60% genome coverage. Diversity Array Technology (DArT) markers are high throughput allowing greater numbers of markers to be generated.

Results: Progeny from a cross between a sugarcane variety Q165 and a *S. officinarum* accession IJ76-514 were used to generate 2467 SD markers. A genetic map of Q165 was generated containing 2267 markers. These markers formed 160 linkage groups (LGs) of which 147 could be placed using allelic information into the eight basic homology groups (HGs) of sugarcane. The HGs contained from 13 to 23 LGs and from 204 to 475 markers with a total map length of 9774.4 cM and an average density of one marker every 4.3 cM. Each homology group contained on average 280 markers of which 43% were DArT markers 31% AFLP, 16% SSRs and 6% SNP markers. The multi-allelic SSR and SNP markers were used to place the LGs into HGs.

Conclusions: The DArT array has allowed us to generate and map a larger number of markers than ever before and consequently to map a larger portion of the sugarcane genome. This larger number of markers has enabled 92% of the LGs to be placed into the 8 HGs that represent the basic chromosome number of the ancestral species, *S. spontaneum*. There were two HGs (HG2 and 8) that contained larger numbers of LGs verifying the alignment of two sets of *S. officinarum* chromosomes with one set of *S. spontaneum* chromosomes and explaining the difference in basic chromosome number between the two ancestral species. There was also evidence of more complex structural differences between the two ancestral species.

Keywords: *Saccharum*, Polyploid, Genetic mapping, SNP markers, DArT sugarcane array

INTRODUCCIÓN



[Careers](#) | [FAQ](#) | [Contact Us](#) | [Get a Free Quote](#)

[Order Services](#)

Search..



[Home](#)

[Who we are](#) ▼

[Products & Services](#) ▼

[Network](#) ▼

[Resources](#) ▼

DArTseq

The advantage of DArTseq over the array version of DArT is currently limited to applications requiring very high marker densities. This technology is therefore positioned in the area of high resolution mapping and detailed genetic dissection of traits. As modern breeding, DArTseq is increasingly used in crop improvement applications. [Read More](#)

Our Genotyping By Sequencing service is called DArTseq ...

Our Microarray platform can provide very valuable data ...

Information Technology is at the core of our operations ...

Genetic identification and purity testing ...

INTRODUCCIÓN

www.diversityarrays.com/dart-technology-overview



Home » Products & Services

Overview

Why DArT

Quality Assurance

DArTseq

DArT Application

Microarray

Technology Packages



The main advantages of

Contact Us | Get a Free Quote | [Order Services](#)

Network ▾ Resources ▾

otyping technology detecting all types of DNA
It was invented by [Dr Andrzej Kilian](#), to
er molecular marker technologies such as RFLP,

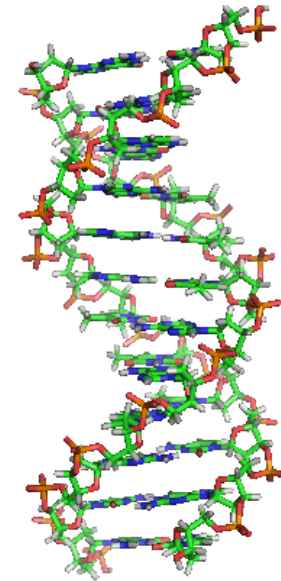
y subject to significant discounts. We offer them
veloped Countries, services devoted to food
high volume services.

Dr Andrzej Kilian

Director y fundador de la compañía

INTRODUCCIÓN

Proyecto.....
Selección de la
metodología



MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 1. Relación de clones genotipificados mediante marcadores DArT-Seq.

N°	VARIEDAD	N°	VARIEDAD	N°	VARIEDAD
1	ATEMex 96-40	32	COLPOSCTMex 06-39	63	Ja 64-20
2	B 35187	33	COLPOSCTMex 06-474	64	L 60-14
3	B 45181	34	CP 34-79	65	L 68-40
4	C 323-68	35	CP 56-63	66	LCP 81-10
5	CB 36-14	36	CP 59-22	67	LGM 92-156
6	CB 40-77	37	CP 62-374	68	LTMex 93-354
7	CC 83-29	38	CP 70-1133	69	LTMex 94-2
8	CC 84-59	39	CP 70-1527	70	LTMex 96-10
9	CC 85-92	40	CP 72-1210	71	M 112/34
10	CC 86-29	41	CP 72-2086	72	Mex 07-1408
11	CC 87-505	42	CP 73-1547	73	Mex 08-1270
12	CC 92-2198	43	CP 74-2005	74	Mex 09-1358
13	CC 92-2358	44	CP 75-1091	75	Mex 09-1433
14	CC 93-3423	45	CP 75-1632	76	Mex 52-17
15	CC 93-3458	46	CP 78-1610	77	Mex 53-142
16	CC 93-3826	47	CP 80-1743	78	Mex 56-105
17	CC 93-4206	48	CP 82-2043	79	Mex 56-294
18	CC 93-4418	49	CP 84-730	80	Mex 56-476
19	CC 94-5168	50	CP 88-1508	81	Mex 57-1456
20	CC 94-5739	51	CP 89-2143	82	Mex 57-473
21	CC 98-12	52	CP 89-2377	83	Mex 58-418
22	CCSP 89-43	53	CP 92-1401	84	Mex 59-12
23	CG 97-100	54	CYZ 82-154	85	Mex 59-428
24	Cl 47-83	55	EMex 01-323	86	Mex 60-1459
25	Co 421	56	EMex 02-05	87	Mex 61-1428
26	Co 453	57	EMex 05-222	88	Mex 62-631
27	Co 467	58	EMex 05-225	89	Mex 64-406
28	CoMex 02-225	59	HOCP 93-746	90	Mex 64-649
29	COLPOSCTMex 05-204	60	ICA 76-7	91	Mex 65-1418
30	COLPOSCTMex 05-223	61	ICPMex 92-1420	92	Mex 66-1235
31	COLPOSCTMEX 06-2362	62	ITV 92-1424	93	Mex 68-1345

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestra

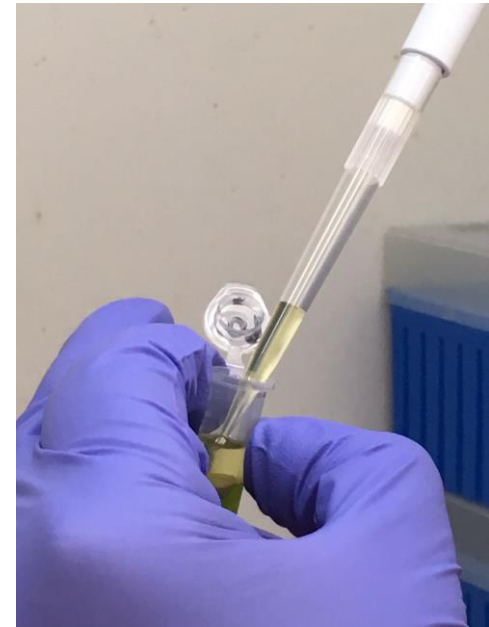
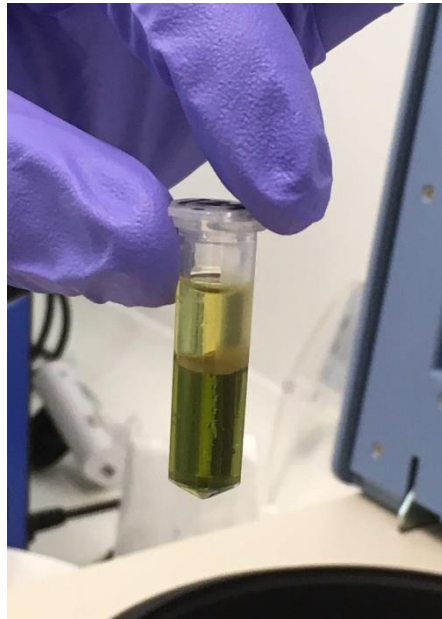
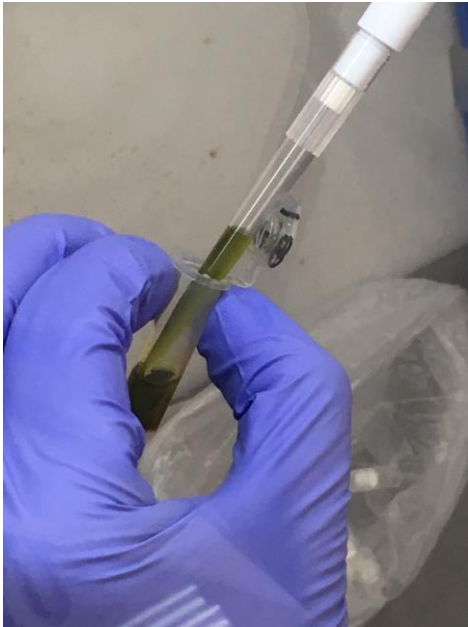


MATERIALES Y MÉTODOS



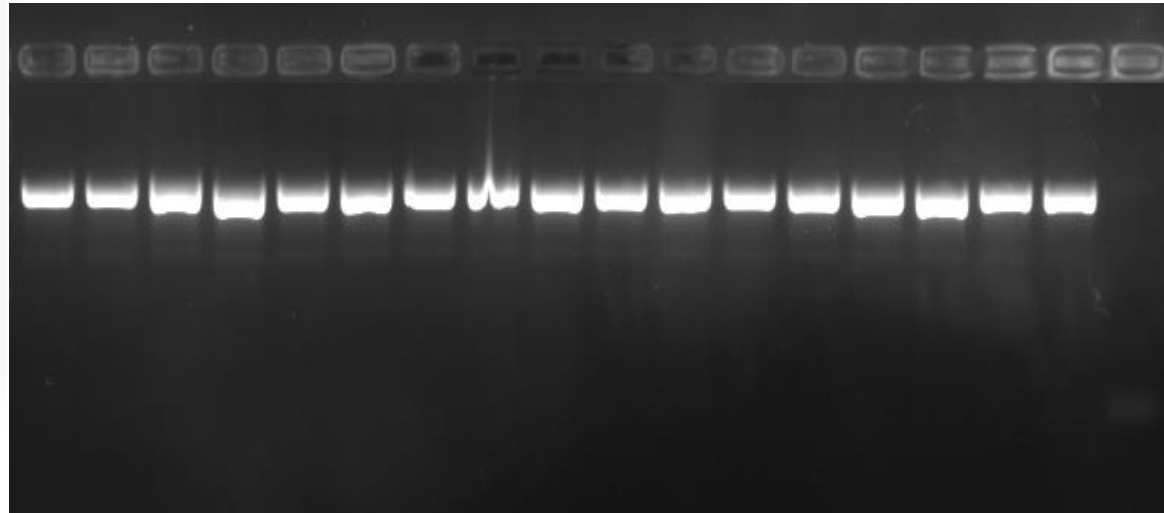
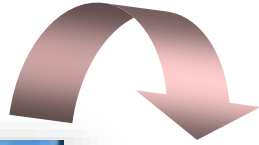
Proceso de extracción del DNA

MATERIALES Y MÉTODOS



Proceso de extracción del DNA mediante el método de CTAB 2%

MATERIALES Y MÉTODOS



DNA
Nuclear

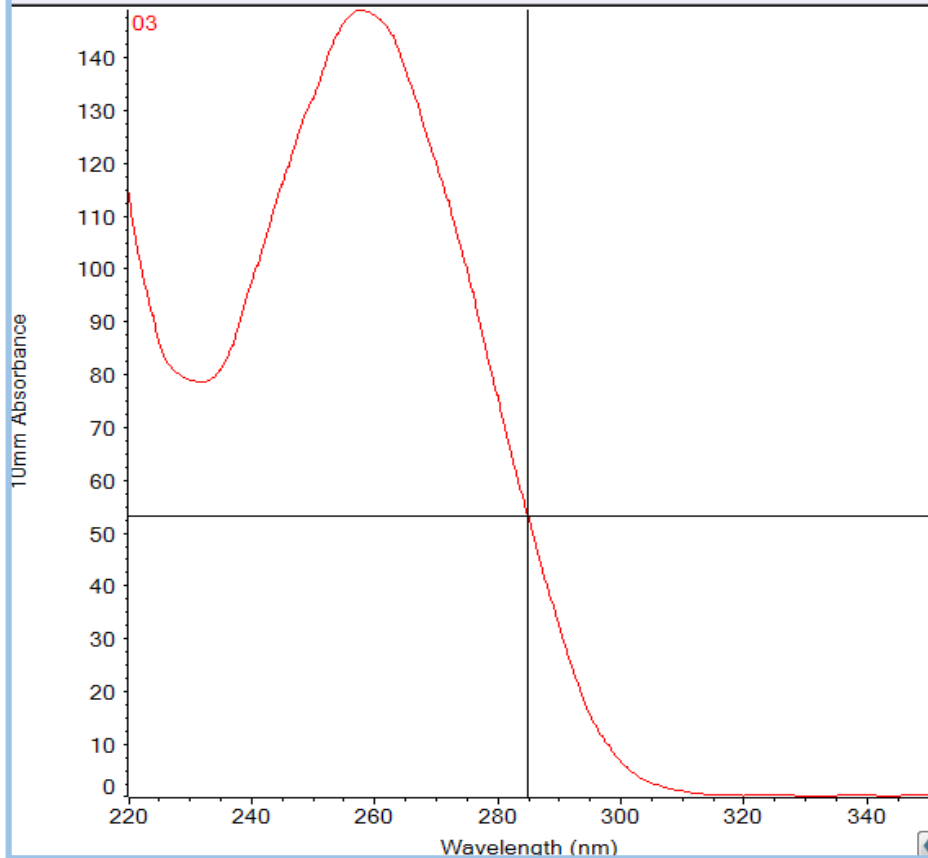
MATERIALES Y MÉTODOS

Se determina la concentración del DNA por espectrofotometría
mediante el uso de Nanodrop 2000 (Thermo Scientific)



MATERIALES Y MÉTODOS

Load your sample and press the measure button.



Sample ID: Pedestal

Type: 50.00

Conc. ng/ μ l

A260 (10 mm path)

A280 (10 mm path)

260 / 280

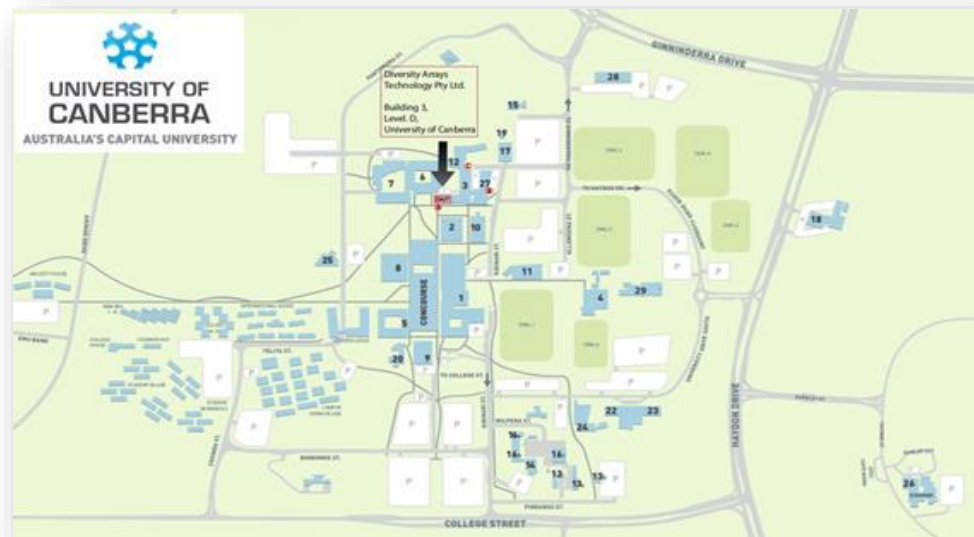
260 / 230

Baseline correction nm

MATERIALES Y MÉTODOS

Diversity Array
Technology

University of
Canberra,
Australia



MATERIALES Y MÉTODOS

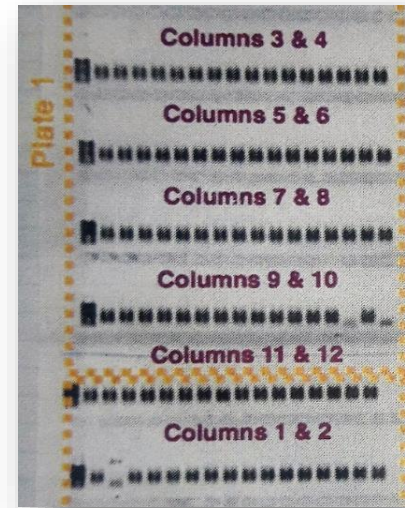
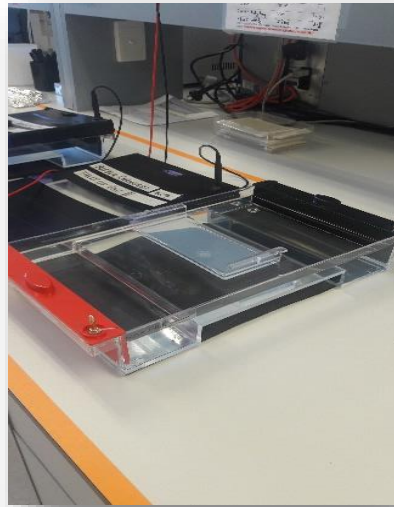


Se coloca dentro de la placa las enzimas de restricción seleccionadas para reducción de la complejidad del genoma.



La placa se incuba, con la reacción dig / lig completa, a la temperatura requerida para las enzimas de restricción usadas.

MATERIALES Y MÉTODOS



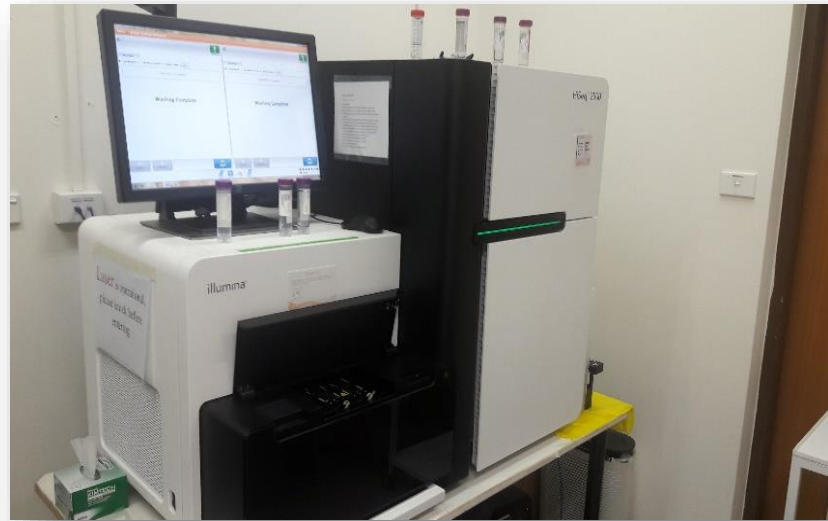
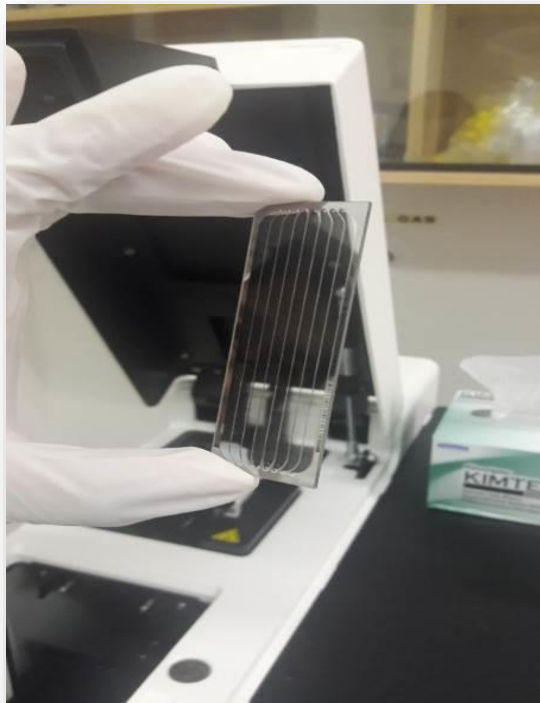
Evaluación de la calidad del DNA

MATERIALES Y MÉTODOS



Se marcan los DNA con los índices para el reconocimiento de cada una de las secuencias para la construcción de las librerías.

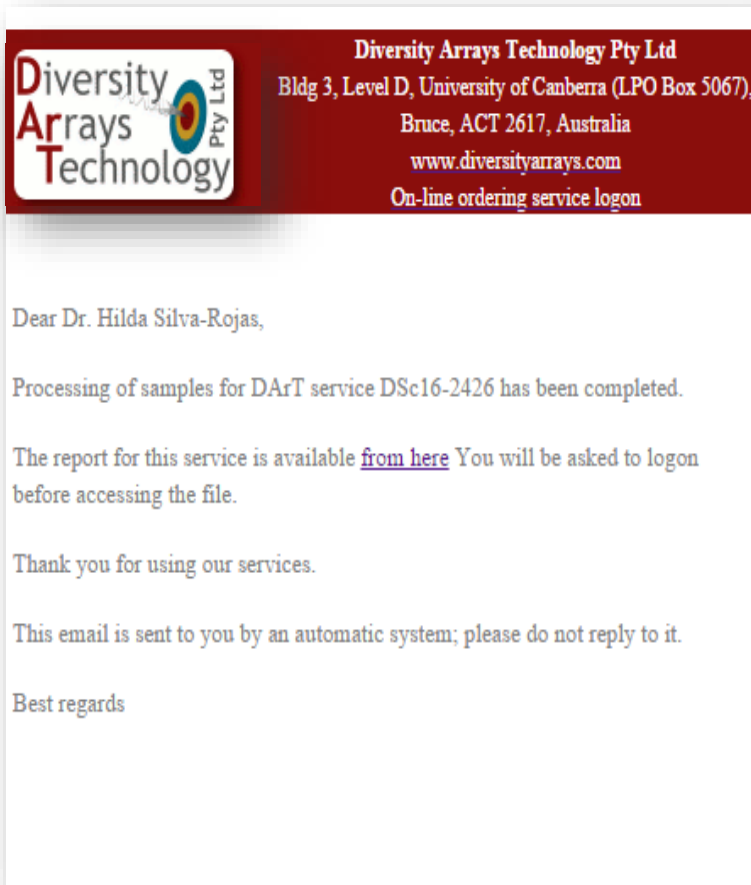
MATERIALES Y MÉTODOS



Secuenciación de nueva generación

RESULTADOS.

Envío de resultados



Diversity Arrays Technology Pty Ltd
Bldg 3, Level D, University of Canberra (LPO Box 5067),
Bruce, ACT 2617, Australia
www.diversityarrays.com
On-line ordering service logon

Dear Dr. Hilda Silva-Rojas,

Processing of samples for DArT service DSc16-2426 has been completed.

The report for this service is available [from here](#) You will be asked to logon before accessing the file.

Thank you for using our services.

This email is sent to you by an automatic system; please do not reply to it.

Best regards