

Programa de Mejoramiento Genético de Cacao

Los clones comerciales de cacao registrados actualmente ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) provienen de la selección participativa de árboles élite en predios de productor (Agudelo Castañeda et al., 2017; Arguello Castellanos et al., 1999; Compañía Nacional de Chocolates, 2021b; Perea et al., 2013). Sin embargo, aunque este tipo de estrategia ha contribuido a la identificación de genotipos con atributos agronómicos de interés, no garantiza ganancia genética. En un programa de mejoramiento genético, el conocimiento de parámetros como la aptitud combinatoria general y específica de los individuos base, además de la heredabilidad de atributos agronómicos de interés, constituye herramientas clave para el establecimiento de programas de mejoramiento con una mejor base genética.

A partir de 2012, AGROSAVIA comenzó un programa de recombinación genética entre accesiones promisorias del banco de germoplasma, y en 2016 adoptó la SR como estrategia de mejoramiento a largo plazo. Esta estrategia está orientada hacia la ganancia genética a través del tiempo y hacia el uso de la diversidad con la que se cuenta (Rodríguez-Medina et al., 2019). Dado que un programa de mejoramiento genético debe establecer objetivos claros para obtener materiales mejorados que puedan responder a las necesidades de los productores y del mercado, se relacionan a continuación los objetivos de la estrategia de mejoramiento genético adoptada por AGROSAVIA.

Objetivo general

Asegurar el aprovechamiento de los recursos genéticos disponibles con el fin de ofrecer variedades mejoradas que, en combinación con prácticas agrícolas apropiadas, permitan incrementar la producción, disminuir la pérdida por factores de estrés biótico y abiótico, y que además faciliten el acceso a los mercados nacional e internacional.

Objetivos específicos

- Obtener variedades productivas de cacao de fino aroma y sabor, resistentes a las principales limitantes fitosanitarias, tolerantes a factores de estrés abiótico y de menor acumulación de metales pesados.
- Obtener portainjertos de cacao resistentes a las principales limitantes fitosanitarias, tolerantes a factores de estrés abiótico y de menor acumulación de metales pesados
- Identificar combinaciones copa × portainjerto de cacao que expresen atributos favorables tanto del portainjerto, como de la copa.

Premejoramiento

En programas de mejoramiento genético es importante tener conocimiento de las poblaciones base utilizadas, en aras de facilitar la selección de los parentales. El premejoramiento se refiere a las primeras etapas para aprovechar los recursos genéticos; el objetivo es contribuir a la utilización de la diversidad genética a partir de la caracterización y evaluación de las colecciones de germoplasma, que permitan incorporar al programa genotipos con características favorables.

El alto Amazonas colombiano hace parte de la región de origen de *T. cacao* y, como país de origen, Colombia cuenta con una gran fuente de diversidad genética de la especie (Thomas et al., 2012). Los recursos genéticos con los que cuenta el país se conservan en el banco de germoplasma de la nación y en colecciones de trabajo en centros de investigación de AGROSAVIA, del gremio, de institutos de investigación y de la industria privada. El germoplasma conservado en AGROSAVIA es un patrimonio de la nación y está compuesto tanto por accesiones colectadas en Colombia como por introducidas al país. Se conservan 514 accesiones en dos centros de investigación de AGROSAVIA: en Palmira, donde se estableció la primera colección y se conservan 514 accesiones, y en La Suiza, donde se conservan 463. Además, se conservan 12 accesiones de la especie hermana de cacao *Theobroma grandiflorum*, una accesión de *T. bicolor*, una accesión de *T. bernoulli* Pittier y una accesión de *Herrania* sp. Los datos de pasaporte disponibles para la colección indican que la mayoría de las accesiones fueron colectadas en finca de productor (66 % aproximadamente) o corresponden a materiales comerciales introducidos o provenientes de otros

programas de mejoramiento genético (27%). Solo cerca del 7% de la colección proviene de colectas realizadas en regiones silvestres.

El primer estudio de diversidad genética, publicado por Sánchez et al. (2007), utilizó marcadores isoenzimas, RAPD, SSR, RFLP para analizar 100 accesiones del banco de germoplasma conservado en AGROSAVIA. El estudio no mostró mucha diferenciación entre accesiones. Algunos estudios de diversidad genética de germoplasma de cacao en Tumaco, Nariño, mostraron que existe una diversidad genética de la especie importante en esta región (Morillo et al., 2014; Ruiz Erazo, 2014). Osorio-Guarín et al., (2017) incluyeron posteriormente un mayor número de accesiones conservadas en el banco de germoplasma en un estudio de diversidad genética, las cuales correspondían tanto a clones comerciales introducidos, como a materiales colectados en el país. Comparando con los grupos genéticos reconocidos, se mostró que hay una gran diversidad genética y que probablemente en Colombia existen grupos genéticos nuevos que pueden ser utilizados en los programas de mejoramiento.

También se han llevado a cabo actividades de caracterización fenotípica del banco de germoplasma de cacao, lo que ha permitido observar diferencias entre accesiones en productividad e incidencia de monilia y escoba de bruja (Osorio-Guarín et al., 2020). De los materiales caracterizados, se encontraron ocho accesiones con menor incidencia de monilia y cuatro con menor incidencia de escoba de bruja.

En la actualidad, los datos de los bancos de germoplasma de la nación están siendo integrados por AGROSAVIA en la plataforma Grin Global (Germplasm Resource Information Network, ver: <https://www.grin-global.org/>), que fue desarrollada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) y el Global Crop Trust, y que permite el manejo de la información por parte de los curadores de las colecciones. Los datos de pasaporte de la colección de germoplasma de cacao de AGROSAVIA fueron también integrados en esta plataforma (ver: <http://bgvcolombia.agrosavia.co:8026/gringlobal/>). Esto permite el acceso a la información de las accesiones y la integración de datos fenotípicos y datos de pasaporte.

Los programas de mejoramiento genético también pueden hacer uso de plataformas que faciliten el registro y acceso a la información de los parentales, progenies y parámetros genéticos; además, permiten la colaboración entre

instituciones para el desarrollo de programas de mejoramiento genético de especies en común. Con algunas plataformas es posible simular la estrategia de mejoramiento establecida, lo que permite conocer las tasas de ganancia genética y de “*varietal turnover*”, y al mismo tiempo tener un buen manejo del *pedigree*, de las poblaciones y de los lotes experimentales en evaluación. Con estas plataformas se pueden compartir datos con otras instituciones dedicadas al mejoramiento genético. La adopción de una herramienta como esta representaría una excelente oportunidad para el país de modernizar el programa nacional de mejoramiento genético de cacao, dado que así se establecería un programa de mejoramiento colaborativo entre instituciones que pueda ofrecer resultados de forma más eficiente al productor colombiano. Se conocen diversas plataformas que pueden responder a esta necesidad; una de ellas, de uso libre, es la desarrollada por el Grupo Consultivo sobre Investigación Agrícola Internacional (CGIAR, por sus siglas en inglés) llamada Excellence in Breeding Platform (ver: <https://excellenceinbreeding.org/toolbox/tools/eib-breeding-scheme-optimization-manuals>). Otra plataforma, también de uso libre, es The Breeding Information Management System (BIMS) (ver: <https://gitlab.com/mainlabwsu/bims>), que permite ingresar datos de parámetros genéticos. También hay otras plataformas que responden a las mismas necesidades y que incluyen un costo para su acceso, como Phenom Networks (ver: <https://phenome-networks.com/en/>), Integrated Breeding Platform (Breeding Management System) (ver: <https://bmspro.io/>) y Plant Breeding Software (PRISM) (ver: <https://www.teamcssi.com>).

Para los autores del presente libro, es importante extender una invitación a otras instituciones a aunar esfuerzos en un programa nacional de mejoramiento genético de cacao, con el cual, a partir del uso de este tipo de plataformas, todas las partes aliadas puedan tener acceso a la información del programa nacional de mejoramiento genético de la especie.

Clones comerciales registrados en Colombia

A finales de la década de los noventa se fomentaron varias iniciativas para identificar materiales genéticos regionales promisorios, a partir de métodos de selección participativa, en predios de productor (Arguello Castellanos et al., 1999). Árboles de cacao sobresalientes fueron multiplicados vegetativamente y establecidos en ensayos clonales para evaluar su desempeño agronómico, lo que permitió identificar genotipos con características sobresalientes.

Como parte del fortalecimiento del sector cacaotero, en 2014 se registraron los dos primeros clones por parte de Corpoica (actualmente AGROSAVIA): TCS 01 y TCS 06 (AGROSAVIA, 2019, 2014) (tabla 1). Ese mismo año, Fedecacao registró ocho materiales de cacao para la zona montaña santandereana y piedemonte llanero: FEAR 5, FLE 2, FLE 3, FEC 2, FSA 12, FSA 13, FSV 41 y FTA 2 (Perea et al., 2013) (tabla 1). En 2017, AGROSAVIA amplió el portafolio de clones comerciales con los registros de TCS 13 y TCS 19 (Agudelo Castañeda et al., 2017), mientras que Fedecacao incluyó el clon FSV 155 en el Registro Nacional de Cultivares Comerciales del ICA para la zona de piedemonte llanero (Fedecacao, 2019). En 2021, la Compañía Nacional de Chocolates (2021b) registró los clones CNCh 12 y CNCh 13 (tabla 1), y Fedecacao registró cinco nuevos materiales, FSV 1, FGI 4, FMA 7, FBO 1, FCHI 8 (Fedecacao, 2021a, 2021b, 2021c, 2021d, 2021e) (tabla 1). La figura 3 ilustra los clones comerciales con registro ICA actualmente en Colombia.

Si bien se han seleccionado diferentes clones de cacao con atributos agronómicos de interés, se requiere la producción de nuevas variedades con destacado rendimiento que respondan a demandas actuales; por ejemplo, factores de estrés abiótico como resultado de los efectos del cambio climático (estrés por sequía o por periodos prolongados de inundación, y altas temperaturas), inocuidad y nuevas limitantes fitosanitarias conservando la calidad química y sensorial.

Tabla 1. Características principales de materiales genéticos incluidos en el Registro Nacional de Cultivares Comerciales del ICA

Clones con registro ICA	Rendimiento experimental (kg/ha/año)	Índice de grano	Índice de mazorca
CNCh 12	2547	1,52	16
CNCh 13	2056	1,58	12
FBO 1	1375	1,6	16
FCHI 8	1400	1,6	15
FTA 2	1389	1,8	15
FGI 4	1600	1,6	18
FMA 7	1800	1,8	15
FSV 1	1600	2,1	13
FEAR 5	1689	1,6	17
FEC 2	1895	1,6	16
FLE 2	1612	2,0	13
FLE 3	1843	1,6	17
FSA 12	1575	1,30	18
FSA 13	1824	1,3	24
FSV 41	1993	2,1	13
FSV 155	450	1,6	25
TCS 01	3,3 kg/árbol/año	3	9
TCS 06	2,0 kg/árbol/año	2	12
TCS 13	1,5 kg/árbol/año	1,8	14
TCS 19	1,8 kg/árbol/año	1,6	16

* MS: medianamente susceptible; R: resistente; MR: medianamente resistente; S: susceptible.

** AC: autocompatible; AI: autoincompatible.

Fuente: Elaboración propia, a partir de datos de AGROSAVIA (2019, 2014), Agudelo Castañeda et al. (2017), Compañía Nacional de Chocolates (2021b), Fedecacao (2019, 2021a, 2021b, 2021c, 2021d, 2021e), Perea et al. (2013)

Respuesta a <i>Moniliophthora roreri</i> *	Compatibilidad**	Institución de registro
-	AC	Compañía Nacional de Chocolates
-	AC	Compañía Nacional de Chocolates
MR	AI	Fedecacao
MR	AI	Fedecacao
MS	AC	Fedecacao
MS	AC	Fedecacao
S	AI	Fedecacao
MS	AI	Fedecacao
MS	AC	Fedecacao
R	AI	Fedecacao
MR	AI	Fedecacao
MR	AI	Fedecacao
MR	AI	Fedecacao
MS	AI	Fedecacao
S	AC	Fedecacao
MS	AC	Fedecacao
-	AC	AGROSAVIA
-	AI	AGROSAVIA
-	AC	AGROSAVIA
-	AC	AGROSAVIA



Figura 3. Clones comerciales de cacao incluidos en el Registro Nacional de Cultivares Comerciales del ICA. a. CNCh 12; b. CNCh 13; c. TCS 01; d. TCS 06; e. TCS 13; f. TCS 19; g. Clones registrados por Fedecacao.

Nota: La imagen de clones registrados por Fedecacao fue tomada por el investigador Olivier Sounigo, del Centro de Investigación Palmira de AGROSAVIA, en la granja Villa Mónica de Fedecacao (San Vicente de Chucuri). Las imágenes de los clones CNCh 12 y CNCh 13 son cortesía del Ingeniero Oscar Darío Hincapié Echeverri de la Compañía Nacional de Chocolates. Las imágenes de los clones TCS son cortesía de la ingeniera Ruddy Lizette Huertas Beltrán del Centro de Investigación El Nus de AGROSAVIA.

Estrategia actual de mejoramiento genético de cacao de AGROSAVIA: selección recurrente

La SR es una estrategia cíclica de mejoramiento que se usa para incrementar la frecuencia de alelos favorables de un atributo de interés, a través de cruza-mientos entre individuos con atributos de valor en varios ciclos de selección (Hull, 1945; Jenkins, 1940). La adopción de SR como nueva estrategia de mejoramiento genético, por parte de AGROSAVIA, está orientada a fomentar la ganancia genética en la selección de clones de alto rendimiento y resistentes a limitantes fitosanitarias. En esta estrategia, se determina la aptitud combinatoria de genotipos de interés para la selección de parentales. La figura 4 presenta la estrategia de SR utilizada actualmente por AGROSAVIA.

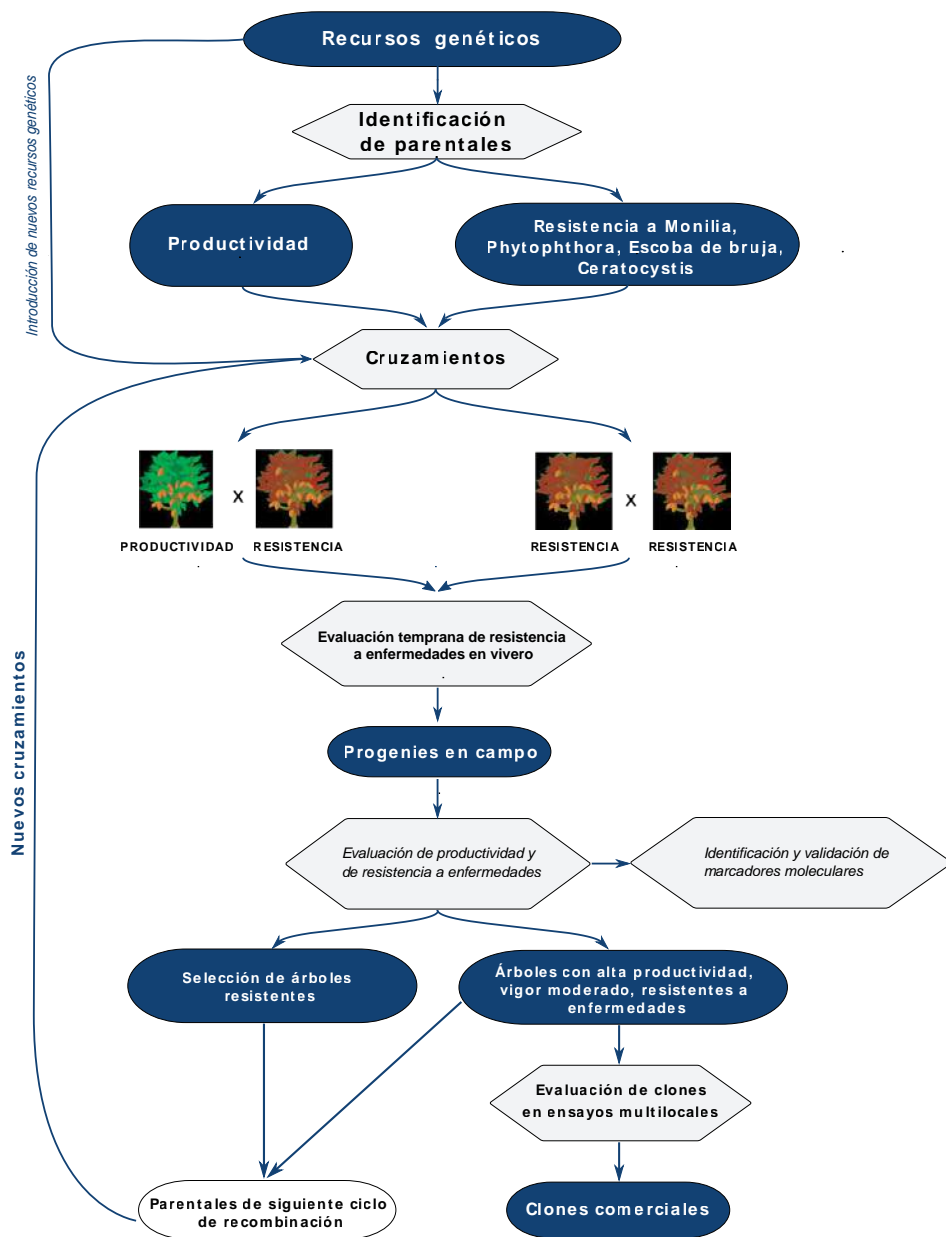


Figura 4. Estrategia de SR empleada actualmente en el Programa de Mejoramiento Genético de Cacao de AGROSAVIA.

Fuente: Elaboración propia

A partir de las actividades de premejoramiento, en las cuales se obtiene información fenotípica y genotípica de las accesiones conservadas en las colecciones de germoplasma, se identifican genotipos élite con atributos de

interés; estos se emplean como parentales en esquemas de cruzamientos que se llevan a cabo a partir de polinizaciones dirigidas, combinando atributos de productividad y resistencia a enfermedades, o acumulando alelos favorables para resistencia a diferentes enfermedades.

Las progenies obtenidas a partir de cruzamientos dirigidos son evaluadas bajo condiciones controladas. Uno de los parámetros incluidos en la evaluación temprana de progenies es la resistencia a enfermedades, que se realiza a partir de inoculaciones artificiales de patógenos que afecten la planta en estado vegetativo. Progenies seleccionadas en vivero son establecidas en campo, donde se evalúan por componentes de productividad y resistencia a enfermedades. Algunos rasgos morfofisiológicos pueden también ser usados durante la selección de parentales por tolerancia a factores de estrés abiótico y biótico (Alban et al., 2016; Nyadanu et al., 2012).

En el programa actual, la aptitud combinatoria general (ACG) de los parentales en relación con algunos atributos de interés, como es el caso de componentes de rendimiento que incluyen número de frutos y número y peso de semillas, se determina para seleccionar parentales por su ACG para siguientes ciclos de recombinación. Con este tipo de estrategia se busca estimar heterosis para algunos caracteres, además de seleccionar parentales cuyas combinaciones genéticas permitan obtener poblaciones mejoradas. El estudio de parámetros genéticos como la heredabilidad de caracteres de interés también se realiza en el marco de esta estrategia de mejoramiento genético.

La estrategia de SR ha sido utilizada desde la década de los noventa en Brasil, Costa Rica, Ghana, India, Malasia, Papúa Nueva Guinea y Trinidad y Tobago (Bekele & Phillips-Mora, 2019). La recombinación genética a partir de polinizaciones dirigidas mediante cruzamientos entre dos parentales, o a partir de diseños de cruzamientos dialélicos, o diseños factoriales como Carolina Norte II, ha sido muy utilizada en mejoramiento genético de cacao para favorecer la resistencia a enfermedades y la productividad (Lopes et al., 2011). El uso de diseños factoriales permite estimar la ACG de cada parental para llevar a cabo nuevos cruzamientos entre los parentales con los mejores niveles de ACG; también ayuda a estimar la heredabilidad y el progreso genético alcanzado en cada ciclo de recombinación. La selección de individuos superiores en poblaciones segregantes, como las obtenidas de SR, contribuye al avance en el mejoramiento genético de cacao (Padi et al., 2016).

En otros países, ha sido adoptada una variante de esta estrategia: la selección recurrente recíproca (Eskes et al., 1995; Lopes et al., 2011; Pokou et al., 2009), la cual contempla el cruzamiento entre poblaciones diferentes y espera un efecto positivo de complementariedad de atributos favorables diferentes en cada población; además, busca favorecer la heterosis (Eskes et al., 1995). Sin embargo, la experiencia con selección recurrente recíproca en Ghana evidenció que esta estrategia no resultaba en un verdadero incremento en el vigor híbrido, y permitió concluir que la simple estrategia de SR es óptima como estrategia de mejoramiento genético en cacao (Pang & Lockwood, 2008).

La estrategia que se emplea en la actualidad contempla también la identificación y validación de marcadores moleculares asociados a atributos agronómicos de interés que puedan ser utilizados en la selección de árboles élite. Es así como AGROSAVIA identificó recientemente marcadores moleculares potencialmente relacionados con productividad y resistencia a monilia y escoba de bruja (Osorio-Guarín et al., 2020).

A partir de los ensayos de progenies en campo se seleccionan árboles que acumulan alelos favorables de resistencia a una o más limitantes fitosanitarias; estos árboles se usan como parentales en un siguiente ciclo de recombinación genética. Árboles productivos, de vigor moderado y resistentes a por lo menos una limitante fitosanitaria son seleccionados con dos propósitos: por un lado, se utilizan como parentales en un siguiente ciclo de recombinación, y, por otro lado, son propagados vegetativamente con el objetivo de evaluarlos en ensayos clonales multilocales, bajo diferentes condiciones edafoclimáticas, lo que permite obtener información de su interacción con el ambiente.

Interacción genotipo × ambiente

La interacción genotipo por ambiente es el desempeño diferencial de los genotipos en ambientes diversos, y es uno de los efectos de la función productiva o de fenotipo (Simmonds, 1981):

$$F = G + A + (G \times A)$$

Esta relación hace referencia al efecto que tiene sobre el fenotipo de cada individuo el genotipo (G) (información genética), el ambiente (A) (clima, suelo,

manejo por parte del productor) y la interacción entre estos ($G \times A$) (el comportamiento de los genotipos en los diferentes ambientes) (Simmonds, 1981).

Algunos estudios han reportado una interacción entre el genotipo, el ambiente y el manejo agronómico de plantaciones de cacao (Marfu et al., 2009). Estos estudios resaltan la importancia de determinar la estabilidad de genotipos promisorios en diferentes ambientes, teniendo en cuenta que la estabilidad en la expresión de atributos agronómicos de interés y de importancia económica puede no ser uniforme; por lo tanto, se deben realizar estudios de adaptabilidad a diferentes regiones antes de liberar nuevos genotipos en regiones distintas de aquellas donde han sido seleccionados.

Colombia es un país con una amplia diversidad en condiciones edafoclimáticas, por lo cual no es aconsejable dar recomendaciones respecto a un material genético con base en datos obtenidos en una sola localidad, y menos aún para un solo año de evaluación. En el país, es indispensable evaluar el desempeño agronómico de un material en un conjunto de ambientes y durante un periodo de años, y así aportar información de las interacciones genotipo \times año y genotipo \times localidad. A pesar de la importancia del efecto de la interacción genotipo \times ambiente, en Colombia estos estudios apenas comienzan a recibir reconocimiento de su valor.

En línea con lo anterior, y considerando la gran variabilidad edafoclimática que existe en las regiones cacaoteras de Colombia, es necesario el establecimiento de pruebas multilocales que permitan estudiar el potencial de parentales promisorios o de clones en un amplio rango de ambientes para identificar el efecto de estos, además de la interacción genotipo \times ambiente sobre el material en evaluación. Las pruebas multilocales permiten estimar el desempeño productivo, sanitario y de calidad de acuerdo con las características ambientales de cada localidad, con el objetivo de determinar la adaptabilidad general o específica de los genotipos, con lo cual es posible establecer dominios de recomendación.

Con la Resolución 067516 de 2020, el ICA estableció la normativa para la inscripción de nuevos cultivares, en el Registro Nacional de Cultivares Comerciales, mediante el establecimiento de pruebas de evaluación agronómica (PEA). A partir de estas pruebas, se evaluaron genotipos promisorios en diferentes localidades en una misma subregión natural, con el objetivo de determinar

su grado de adaptación y de desempeño agronómico. En aras de obtener la ampliación de registro del cultivar para otras subregiones naturales, es necesario el establecimiento de nuevas PEA que permitan evaluar el desempeño de los cultivares en condiciones ambientales diferentes.

En el programa de mejoramiento genético propuesto en este documento, desde la estrategia central de SR, se espera obtener familias y genotipos mejorados con un grado de mayor estabilidad, bajo la premisa de rendimiento-estabilidad o resistencia-estabilidad, lo que además significa ofrecer materiales con mayor adaptabilidad a los cambios y ambientes (Fehr, 1991; Kang & Magari, 1996). De esta manera, se buscan genotipos que sean resilientes (o menos afectados) a las variaciones ambientales y cuyos atributos se maximicen por el efecto genético. El programa busca identificar tanto genotipos que se adapten bien a diferentes ambientes, como genotipos promisorios para ambientes específicos.

Uso de técnicas de secuenciación de alto rendimiento

El mejoramiento genético convencional de una especie perenne como el cacao implica tiempos de evaluación y selección muy largos, por lo cual el uso de nuevas tecnologías en programas de mejoramiento genético, como las contempladas por las ciencias ómicas (genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica y fenómica), es importante para la evaluación de familias mejoradas, pues así se incrementa la precisión de selección y se acelera la tasa de ganancia genética (Langridge & Fleury, 2011). Las técnicas de secuenciación de alto rendimiento generan una gran cantidad de datos que pueden ser utilizados en los procesos de selección temprana de individuos con rasgos de interés agronómico. Estos datos ayudan a identificar marcadores moleculares asociados a los fenotipos de interés de la especie de estudio (Kilian & Graner, 2012) y a investigar los mecanismos genéticos subyacentes de estos rasgos. Adicionalmente, estas tecnologías permiten una genotipificación profunda de las colecciones conservadas en bancos de germoplasma, y así se puede contribuir a dilucidar la identidad genética de las accesiones conservadas, al seguimiento de variedades y a la identificación de duplicados (McCouch et al., 2012).

La información genómica que se ha venido generando en el Programa de Mejoramiento Genético de Cacao permitirá en un futuro utilizar herramientas de selección genómica. Esta última utiliza marcadores genéticos

para predecir, a través de modelos, el valor genético de la población evaluada y de su progenie. La selección genómica puede utilizarse para acelerar la eficacia de los programas de mejoramiento genético en plantas y en animales (Budhlakoti et al., 2022; Fugerey-Scarbel et al., 2021, McGaugh et al., 2021) y, además, ayudar a predecir con precisión rasgos poligénicos complejos, como la resistencia a enfermedades, que en el caso del cultivo de cacao es una problemática mayor. El uso de herramientas de selección genómica ayudará a reducir el costo del programa de mejoramiento genético (Matthews et al., 2019), en este caso de cacao, dado que contribuye a disminuir la duración de cada ciclo de mejoramiento al apoyar las actividades de fenotipificación con genotipificación, lo que ayuda a mejorar la precisión en la selección (Fugerey-Scarbel et al., 2021). Este tipo de herramientas ha sido poco utilizado en el cultivo de cacao (Romero et al., 2017), pero se ha visto que tiene un gran potencial para el mejoramiento de la especie.

De manera complementaria, se busca el desarrollo y la implementación de herramientas de edición genómica utilizando la información generada en el Programa de Mejoramiento Genético de Cacao. Con estas herramientas se podrá modificar el genoma de una manera rápida, precisa y predecible; además, permitirán el desarrollo de nuevas variedades de cacao que sean menos susceptibles a enfermedades, y tener un cultivo más resiliente y sostenible en respuesta al cambio climático. Para esta tecnología, se usa la variación natural de cacao, evitando entrar en conflicto con la regulación de los organismos genéticamente modificados (Kuiken & Kuzma 2021). Es una tecnología que ya ha sido utilizada para silenciar genes supresores de la respuesta de defensa de la planta y que ha mostrado un incremento en la resistencia a *Phytophthora tropicalis* del tejido editado (Fister et al., 2018).

