



SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA DE SOYA RESISTENTE A MOSQUITA BLANCA

Martha Cristina Tovar-Ruiz, José Jesús Magaña-Vázquez, Emiliano-Villordo Pineda, José Luis Anaya-López, José Luis Pons Hernández, Mario Martín González-Chavira, Irineo Torres-Pacheco. INIFAP-Bajío, km 6.5 Carr. Celaya-San Miguel de Allende, Apdo. Postal 112, Celaya, Gto., México. Tel./Fax 01 (461) 6115323.
gonzalez.mario@inifap.gob.mx

Introducción.

La soya (*Glycine max*) es la oleaginosa de mayor importancia en el mundo por el volumen de su producción y los subproductos que se obtienen del grano. En México, el rendimiento de esta oleaginosa es menor que el promedio mundial debido principalmente a las plagas, entre las que destaca mosquita blanca (1). Las estrategias de control usadas no han sido eficientes. Una alternativa es el uso de variedades que contengan genes de resistentes a insectos. El gen *Mi*, fue identificado por primera vez en tomate, y esta involucrado en la resistencia a mosquita blanca y áfidos en esta planta (2). La hipótesis de este trabajo es que los oligonucleótidos específicos al gen *Mi* puede ser usados para identificar marcador moleculares ligados a la resistencia a mosquita blanca en soya, el objetivo, es identificar marcadores moleculares ligados al gen *Mi* para la selección asistida de variedades de soya resistentes a mosquita blanca.

Metodología

Se utilizaron 39 genotipos de soya, 8 previamente caracterizados como tolerantes, 2 susceptibles a mosquita blanca y 29 líneas experimentales obtenidas de cruza entre los genotipos resistentes y susceptibles. Estos genotipos fueron proporcionadas por los campos experimentales del INIFAP: Valle de Culiacán, Sinaloa y Río Bravo, Tamaulipas, México. Se utilizaron 5 pares de oligonucleótidos específicos del gen *Mi* de tomate y soya, cuya secuencia se obtuvo de artículos científicos. La extracción del ADN genómico se realizó por el método de Dellaporta (3). El ADN aislado se cuantificó y homogenizó a una concentración de 10 ng/μl y se estandarizaron las temperaturas de alineamiento para cada par de oligonucleótidos, se utilizaron 35 ciclos de amplificación para los PCR. Los productos amplificados fueron verificados por electroforesis en geles desnaturizante urea-poliacrilamida (8 M, 8.5%). El análisis de polimorfismo se realizó con el programa computacional Cross checker v. 2. 9. El cálculo de PIC (información del contenido de polimorfismos) se realizó de acuerdo a Botstein *et al.* (4).

Resultados y discusión.

Fueron identificados 26 amplicones, con una media de 4.33 amplicones por par de oligonucleótidos. Mediante el valor de PIC se determinaron los oligonucleótidos más útiles para realizar el análisis genético de poblaciones (4). Con este valor se concluyó que 2 oligonucleótidos eran altamente informativos (PIC > 0.5) y 4 razonablemente informativos (0.5 > PIC > 0.25) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de amplicones y valor de PIC para cada par de oligonucleótidos.

Oligonucleótidos	Tamaño del amplicon (pb)	Número de amplicones	PIC
GMR005	250 – 310	2	0.44
GMR014	390 – 1350	3	0.35
GMR020*	120 – 1100	7	0.54
GMR022*	140 – 1200	6	0.74
GMR023	450 – 1250	4	0.29
GMR013	150 – 320	4	0.27

* Indica los oligonucleótidos con mayor potencial para usarse como marcadores moleculares (PIC > 0.5).

Conclusiones.

En esta etapa del proyecto se han identificado 2 oligonucleótidos específicos para el gen *Mi*, que pueden ser utilizados como marcadores moleculares. En la segunda etapa de este proyecto se realizara el análisis de la resistencia a mosquita blanca *in vivo* para uno de los genotipos. La clonación y secuenciación de los amplicones, con la finalidad de diseñar SCAR's (regiones amplificadas caracterizadas por su secuencia) y utilizarlos como marcadores moleculares en la selección de genotipos de soya con resistencia a mosquita blanca.

Agradecimientos.

Fondo SAGARPA-CONACYT a través del proyecto SAGARPA-2005-C01-12235

Bibliografía.

1. Martínez de Iarduya O., Nombela G., Hwang C. F., Williamson V. M., Muñiz M. y Kaloshian I. (2004). Rme1 is necessary for mi-1-mediated resistance and acts early in the resistance pathway. *Mol. plant microbe interact.* 17: 55-61.
2. Rossi, M., Goggin, F. L., Milligan S. B., Kaloshian, I., Ullman, D. E., y Williamson, V. M. (1998) The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 9750-9754.
3. Dellaporta, S. L., Wood, J., y Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-29.
4. Botstein, D., White, R., Skolnick, M y Davis, R.W. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331