



## SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA DE SOYA CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE

Elizabeth Chiquito-Almanza, 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.

El aceite de soya (*Glycine max*) contiene ácidos grasos esenciales e importantes para la salud humana. Esta leguminosa provee la tercera parte del aceite a nivel mundial (1). En México, la producción de aceite de soya es baja debido principalmente a la falta de variedades con alto contenido de aceite. Es este sentido, la selección asistida por marcadores moleculares es una herramienta útil en la detección de genes para la selección de germoplasma y la generación de nuevas variedades. Los genes cuantitativos *Fad* regulan la síntesis de ácidos grasos. La hipótesis de este trabajo es que los oligonucleótidos específicos a los genes *Fad* puede ser usados para identificar marcadores moleculares ligados a la producción de aceite en soya, el objetivo es identificar marcadores moleculares ligados a los genes *Fad 2*, *Fad 3* y *Fad 6* para la selección asistida de variedades de soya con una mayor cantidad de aceite.

### Metodología.

Se utilizaron 39 genotipos de soya provenientes de los campos experimentales del INIFAP: Valle de Culiacán, Sinaloa y Río Bravo, Tamaulipas, México. Se sembraron las semillas y las plántulas se crecieron en invernadero hasta que tuvieron 4 hojas verdaderas. Se colectaron de 2-3 g de tejido foliar para la extracción del ADN genómico con el método de Dellaporta (2). El ADN aislado se cuantificó y homogenizó a 10 ng/μl. Se utilizaron 21 pares de oligonucleótidos diseñados a partir de la secuencia de los genes *Fad 2*, *3* y *6*. Se determinaron las temperaturas de alineamiento para cada par de oligonucleótidos y 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 (3). El cálculo de PIC (información del contenido de polimorfismos) se realizó de acuerdo a Botstein *et al.* (4).

### Resultados y discusión.

Se identificaron 55 amplicones, con un promedio de 3.9 amplicones por oligonucleótidos. Mediante el valor de PIC se determinaron los oligonucleótidos más útiles para realizar el análisis genético de poblaciones (3). Mediante este valor se concluyó que 8 oligonucleótidos eran altamente informativos (PIC > 0.5), 4 razonablemente informativos (0.5 > PIC > 0.25) y 2 bajos en información (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
Bn-05 *	120 – 220	2	0.51
Bn-06 *	350 – 900	3	0.50
Bn-07	230 – 650	3	0.49
Bn-10 *	120 – 1400	7	0.87
Bn-30	130 – 330	4	0.33
Bn-46 *	130 – 310	3	0.54
Bn-47 *	240 – 450	3	0.90
Bn-48	250 – 400	4	0.18
Bn-50	120 – 870	6	0.28
Bn-02 *	320 – 650	3	0.52
Bn-04 *	120 – 775	5	0.70
Bn-18 *	900	1	0.95
Bn-43	90 – 150	2	0.23
Bn-49	119 – 500	9	0.38

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

### Conclusiones.

En esta etapa del proyecto se han identificado 8 oligonucleótidos específicos para los genes *Fad 2*, *3* y *6* que tienen potencial para ser usados como marcadores moleculares. En la segunda etapa de este proyecto se realizara la cuantificación de aceite en cada uno de los genotipos, y la clonación y secuenciación de los amplicones, con la finalidad de diseñar SCAR (regiones amplificadas caracterizadas por su secuencia) y utilizarlos como marcadores moleculares en la selección de genotipos de soya con alto contenido de aceite.

### Agradecimientos.

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

### Bibliografía.

- Kinney, A. J. (1995). Improving soybean seed quality. Induced mutations and molecular techniques for crop improvement. *Proceedings of a symposium*. Organized by IAEA and FAO. Vienna, 19-23 June.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., y Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-29.
- Buntjer, J. B. y Otsen, M. (1999) Cross Checker provides computer-assisted marker interpretation. *Journal of Agricultural Genomics* 4:5.
- 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