

DIVERSIDAD GENÉTICA EN CULTIVARES DE SOYA UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES, EN VENEZUELA

Erika Arnao, Rosaura Perdomo y Eduardo Graterol

RESUMEN

Los marcadores moleculares representan una herramienta de gran precisión para la evaluación de la diversidad genética y la determinación de la identidad de variedades, especialmente en cultivos cuya base genética es estrecha, tales como la soya, debido principalmente a que generalmente las variedades son obtenidas por hibridación entre un reducido grupo de parentales élites genéticamente relacionados. Unos de los marcadores moleculares más usados en estudios de diversidad genética en soya son los microsatélites (SSR), principalmente por ser una técnica simple, rápida y muy confiable para la obtención de perfiles genéticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la diversidad genética de 14 variedades de soya del banco de germoplasma de la Fundación

Danac, mediante el uso de 18 cebadores SSR. Todos los SSR evaluados resultaron polimórficos y produjeron un total de 97 alelos, con valores entre 2 y 12 alelos, siendo el promedio de 5,39 alelos por locus, y el contenido de información polimórfica varió de 0,38 a 0,91, con un promedio de 0,64, valores éstos menores a los obtenidos en cultivares de soya en estudios realizados en distintas regiones. El análisis de agrupamiento realizado, utilizando el coeficiente de Dice, permitió la identificación de tres grupos, en los cuales fue posible la distinción de todos los cultivares. Se corroboró la utilidad de los SSR en estudios de diversidad genética en cultivares de soya y se generó información de utilidad a los programas de mejoramiento de la soya en Venezuela.

Introducción

La soya (*Glycine max* (L.) Merrill), especie originaria de China, es considerada una de las fabáceas más importante en el mundo por su alto contenido de proteína y grasa, con valores promedios de 16 y 35%, respectivamente. La soya es la principal fuente de aceite vegetal en la alimentación humana y de proteína en alimentos balanceados para animales (Solórzano *et al.*, 2005). En el año 2007 este cultivo se sembró en más de 94×10^6 ha a nivel mundial con una producción de $222,5 \times 10^6$ ton de soya, de los cuales más del 80% se produjo en EEUU, Brasil y Argentina (FAO, 2008). Esto convierte a este cultivo en el sexto con mayor producción

en el mundo, superado sólo por caña de azúcar, maíz, trigo, arroz y papa.

En Venezuela, para el año 2007, según Fedeaagro, fueron sembradas 37000 ha de soya, con producción de 60181 ton. Anualmente en el país se consume más de 1×10^6 ton de grano de soya, siendo en casi su totalidad importada. Esa marcada dependencia de las importaciones en este rubro vulnera la seguridad alimentaria y evidencia la necesidad de impulsar el cultivo de la soya en el país. Para ello, es importante el desarrollo de nuevos cultivares, con capacidad de sobreponerse a los daños causados por agentes bióticos y factores abióticos que ocasionan una baja productividad y permitan suplir

la demanda de la soya en el mercado nacional (Solórzano *et al.*, 2005).

El objetivo primario de cualquier programa de mejoramiento es el desarrollo de nuevos cultivares, y para lograrlo el mejorador aplica conocimientos científicos de genética que permitan generar y seleccionar variabilidad. La selección de los progenitores que formarán la población base, la cual da inicio al programa de selección, asegura en gran medida el éxito de cualquier programa de mejoramiento genético de plantas. Por lo tanto, el conocimiento previo acerca de las relaciones genéticas entre los materiales de mejoramiento es crucial para el uso eficiente del germoplasma.

Para estimar la diversidad genética de los cultivares generalmente se utilizan métodos basados en características morfológicas, bioquímicas, y el pedigrí. A pesar de que las características morfológicas han sido predominantes e importantes en los estudios de diversidad genética, presentan ciertas limitaciones, especialmente en plantas con base genética estrecha, tal como la soya, cuyas variedades generalmente son obtenidas por hibridación dentro de un reducido grupo de parentales élites genéticamente similares, produciendo variedades noveles con menos diversidad genética, las cuales frecuentemente tienden a ser muy similares e indistinguibles morfológicamente (Rongwen *et al.*, 1995; Rodrigues *et al.*,

PALABRAS CLAVE / Diversidad Genética / *Glycine max* L / Marcador Molecular / Soya /

Recibido: 02/03/2010. Modificado: 06/05/2010. Aceptado: 03/06/2010.

Erika A. Arnao T. Ingeniera Agrónoma y Magíster en Agronomía, Universidad Central de Venezuela (UCV). Investigadora, Fundación para la Investigación Agrícola Danac, Venezuela. Dirección: Fundación Danac, Apartado Postal

182, San Javier, vía Guarataro, Edo. Yaracuy, Venezuela. e-mail: erika.arnao@danac.org.ve
Rosaura Perdomo. Ingeniera Agrónoma, Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. Investigadora, Fundación Danac, Venezue-

la. e-mail: rosaura.perdomo@danac.org.ve

Eduardo Graterol. Ingeniero Agrónomo y Maestría en Ciencias en Mejoramiento de Plantas, UCV, Venezuela. Ph.D. en Mejoramiento Genético de Plantas, University of Wiscon-

sin-Madison, EEUU. Gerente de Investigación, Fundación Danac, Venezuela. e-mail: eduardo.graterol@danac.org.ve

GENETIC DIVERSITY OF SOYBEAN CULTIVARS USING SSR MARKERS, IN VENEZUELA

Erika Arnao, Rosaura Perdomo and Eduardo Graterol

SUMMARY

Molecular markers represent a high-precision tool for the assessment of genetic diversity, as well as to determine the identity of varieties, especially in genetically narrow-based crops, such as that of soybean, since in these crops, varieties are usually obtained by hybridization among very closely related elite parents. Among the available molecular markers, microsatellites (SSR) are the most frequently used in studies of genetic diversity in soybean, principally for being a simple, rapid and very reliable technology for obtaining genetic profiles. The aim of this study was to assess the genetic diversity of 14 varieties of soybean from the germoplasm bank of Danac Foundation, using 18

SSR primers. All the SSR evaluated were polymorphic and revealed 97 alleles, ranging from 2 to 12 alleles, with an average of 5,39 alleles per locus, the polymorphic information content ranged from 0,38 to 0,91 with an average of 0,64. This average value is smaller than that obtained for other soybean cultivars in different regions. Cluster analysis, using the Dice coefficient, revealed three groups, with no complete genetic coincidence among cultivars. The SSR were useful to assess genetic diversity in the set of soybean cultivars evaluated in this study. This information is valuable for ongoing soybean breeding programs in Venezuela.

DIVERSIDADE GENÉTICA EM CULTIVARES DE SOJA UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES, NA VENEZUELA

Erika Arnao, Rosaura Perdomo e Eduardo Graterol

RESUMO

Os marcadores moleculares representam uma ferramenta de grande precisão para a avaliação da diversidade genética e a determinação da identidade de variedades, especialmente em cultivos cuja base genética é estreita, tais como a soja, devido principalmente a que geralmente as variedades são obtidas por hibridação entre um reduzido grupo de parentais elites geneticamente relacionados. Alguns dos marcadores moleculares mais usados em estudos de diversidade genética em soja são os microsátélites (SSR), principalmente por ser uma técnica simples, rápida e muito confiável para a obtenção de perfis genéticos. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética de 14 variedades de soja do banco de germoplasma da Fundação Da-

nac, mediante o uso de 18 cevadores SSR. Todos os SSR avaliados resultaram polimórficos e produziram um total de 97 alelos, com valores entre 2 e 12 alelos, sendo a média de 5,39 alelos por locus, e o conteúdo de informação polimórfica variou de 0,38 a 0,91, com uma média de 0,64, valores estes menores aos obtidos em cultivares de soja em estudos realizados em distintas regiões. A análise de agrupamento realizada, utilizando o coeficiente de Dice, permitiu a identificação de três grupos, nos quais foi possível a distinção de todos os cultivares. Foi confirmada a utilidade dos SSR em estudos de diversidade genética em cultivares de soja e foi gerada informação de utilidade aos programas de melhoramento da soja na Venezuela.

2008). En tales casos, las distancias genéticas basadas en marcadores moleculares distribuidos a través del genoma pueden usarse como complemento en la selección de progenitores con la máxima divergencia genética (Correa *et al.*, 1999).

El conocimiento de la diversidad genética ha tenido un impacto significativo en el mejoramiento de plantas, útil siendo la información generada, tanto en la planificación de cruces para la obtención de híbridos y el desarrollo de líneas, como en la asignación de líneas a grupos heteróticos y en la protección varietal (Correa *et al.*, 1999; Priolli *et al.*, 2002; Yamanaka *et al.*, 2007). El rango de diversidad

genética dentro de la especie *Glycine* se desconoce, pero la mayoría de los trabajos concluyen que la diversidad genética es baja en comparación con otras especies autóгамas, lo cual se atribuye a la base genética estrecha del pool de genes disponibles para el mejoramiento (Miroslav *et al.*, 2002).

Distintos tipos de marcadores moleculares han sido utilizados para estudios de diversidad genética en soja, incluyendo proteínas e isoenzimas, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción amplificados

(AFLP), y más recientemente los microsátélites o secuencias simples repetidas (SSR; Correa *et al.*, 1991; Akkaya *et al.*, 1992; Cregan *et al.*, 1999; Miroslav *et al.*, 2002; Pham *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2004; Pecina *et al.*, 2005; Bonato *et al.*, 2006; Hwuan *et al.*, 2008; Anwar *et al.*, 2009).

Los marcadores SSR han resultado ser una herramienta poderosa en estudios genéticos en soja (Akkaya *et al.*, 1992; Cregan *et al.*, 1999), principalmente por ser una técnica que se distingue del resto de los marcadores moleculares al ser considerada simple, rápida y muy confiable para la obtención de perfiles genéticos, además de ser fá-

cilmente automatizada. Esto, unido a las características de multialelismo y codominancia, hacen de los SSR, con su alto contenido de información por locus, marcadores exitosamente usados en la construcción de mapas de ligamiento (Cregan *et al.*, 1999; Song *et al.*, 2004). Su uso en estudios de diversidad genética no solo han proporcionado información valiosa para entender la base genética en varios púeles de genes establecidos en diferentes regiones geográficas, sino también han facilitado la identificación de cultivares de soja, el análisis de loci de características cuantitativas y cualitativas, y la selección asistida por marcadores (Hwuan *et al.*, 2008).

Los niveles de polimorfismo revelado por marcadores SSR en soya han sido altos y mayores a los obtenidos con otros marcadores moleculares tales como RFLP, RAPD y AFLP (Akaka *et al.*, 1992; Hudcovicová and Kraic, 2003; Hwang *et al.*, 2008). Akaka *et al.* (1992) realizaron un estudio en 43 genotipos de soya, detectando un promedio de siete alelos por locus. Morgante y Oliveri (1994) detectaron niveles similares de diversidad alélica en siete loci SSR al evaluar un grupo de 61 genotipos. Rongwen *et al.* (1995) señalaron un promedio de 11 a 26 alelos en siete loci SSR en un grupo de 96 cultivares e introducciones de soya. Diwan and Crecan (1997) evaluaron 20 SSR en 35 genotipos de soya, detectando un promedio de 10,1 alelos por locus. Priolli *et al.* (2002) con 12 SSR lograron distinguir exitosamente un grupo de 186 cultivares de soya morfológicamente similares.

Recientemente, Yamana *et al.* (2007) utilizaron 12 SSR para conocer las relaciones genéticas entre 194 cultivares de soya Chinos, 59 Japoneses y 19 Brasileños. Hwang *et al.* (2008) estudiaron la diversidad genética en 87 líneas de soya silvestres y cultivadas utilizando 377 marcadores SSR en Japón, encontrando un promedio de 3,7 alelos por locus y un promedio de contenido de información polimórfica (PIC) de 0,44. Rodrigues *et al.* (2008) utilizaron 42 SSR para diferenciar dos cultivares esencialmente derivados, de los cuales sólo un locus permitió la diferenciación.

A partir de 2007 se retomó con más auge la siembra del cultivo de soya en Venezuela, y actualmente se están sembrando cultivares originarios de Brasil, tales como las variedades Tracajas, Sambaiba y Raimunda, de Costa Rica la variedad CIGRAS-06 y de

Venezuela la variedad FP90-6103.

La Fundación para la Investigación Agrícola Danac es una institución pionera del mejoramiento genético del cultivo de soya en Venezuela, del cual se han derivado líneas y cultivares. De hecho la variedad FP90-6103 es la única variedad de aquellas obtenidas a nivel nacional que esta siendo utilizada por los agricultores. Luego de varios años sin investigación en mejoramiento genético se ha reiniciado el programa, con miras a desarrollar nuevos y mejores cultivares e impul-

convenio entre Fundación Polar y la Fundación Servicio Shell para el Agricultor (Fusagri), dichos materiales están identificados con las siglas FP. El resto son cultivares procedentes de programas de mejoramiento de otros países, principalmente Brasil.

Extracción de ADN

Diez plantas de cada cultivar fueron crecidas en el umbráculo para la extracción del ADN. Aproximadamente 15 días después de la siembra se tomó muestras de tejido fresco de las diez plantas y se

y dCTP), 0,1µmol de cada primer y 30ng de ADN. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador BIO-RAD usando un programa con los siguientes perfiles de temperatura: un ciclo de desnaturalización inicial de 5min a 94°C, seguido por 3min a 94°C, 40seg a 65°C, seguido por 10 ciclos "touch down" de 40seg disminuyendo la temperatura en 1°C por ciclo hasta llegar a 55°C, seguido por 30 ciclos de 40seg a 94°C, 40seg a 55°C y 1min a 72°C. Finalmente, un paso de extensión final de 7min a 72°C. Los productos de amplificación fueron separados en geles desnaturalizantes de poli(acrilamida 6% y la detección de los fragmentos fue mediante tinción con plata. El tamaño de cada banda fue estimado por la utilización de un marcador de peso molecular 25pb (Promega, USA).

Análisis de datos

A partir de una matriz de 0 (ausencia) y 1 (presencia) se construyó una matriz de similitud basada en el coeficiente de Dice, usada para la obtención del dendrograma, mediante el método UPGMA. Para determinar la estabilidad del agrupamiento se empleó el método de remuestreo (*bootstrap*) de 1000 combinaciones, utilizando el software Free-Tree versión 0.9-1.50 (Pavlíček *et al.*, 1999). El dendrograma se graficó utilizando el programa TreeView (Page, 1996). El análisis de coordenadas principales (ACP) se realizó mediante el software InfoStat (InfoStat, 2004). El contenido de información polimórfica (PIC) se usó para evaluar la capacidad discriminativa de los loci, éste fue calculado usando la fórmula

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^N p_i^2$$

donde P_i : frecuencia alélica del i -ésimo alelo, y N : número de alelos observados.

TABLA I
LISTA DE CULTIVARES DE SOYA MOSTRANDO NOMBRE, PROCEDENCIA, Y PEDIGRÍ

| | Cultivar | Procedencia | Pedigrí |
|----|-----------|-------------------|---------------------------------|
| 1 | FP90-6103 | Fundación Danac | (F81-5421/BR83-10073)-3 |
| 2 | FP93-1924 | Fundación Danac | (BR83-9222/FP-4)-23 |
| 3 | FP92-1904 | Fundación Danac | (BR83-9222/FP-4)-4 |
| 4 | FP92-4906 | Fundación Danac | (BR83-10385/FP-4)-6 |
| 5 | FP92-3802 | Fundación Danac | (BR83-10094/FP-3)-2a |
| 6 | FP90-7102 | Fundación Danac | (F81-5416/BR83-10073)-2 |
| 7 | FP-3 | Fundación Danac | Bossier, Santa maria y cobb |
| 8 | CIGRAS 06 | Costa Rica | Padre' X 'Duocrop' |
| 9 | RAIMUNDA | Brasil | Braxton x (BR27(4)x Cristalina) |
| 10 | SAMBAIBA | Brasil | FT5 x Dourados-14x OCEPAR9-SSI |
| 11 | TRACAJAS | Brasil | |
| 12 | CB-3296 | Cristiani Burkard | |
| 13 | CELESTE | Brasil | Bossier x BB 1T |
| 14 | CONQUISTA | Brasil | Lo76-4484 x Numbaira |

sar el establecimiento de éste cultivo en el país. Para ello es necesario el conocimiento de la diversidad genética del germoplasma existente, que permita diseñar las estrategias de mejoramiento y faciliten la introducción de diversos pooles de genes en la base genética de las futuras variedades comerciales. El objetivo del presente estudio fue la determinación de la diversidad genética en 14 cultivares de soya mediante el uso de marcadores microsátélites.

Materiales y Métodos

Material vegetal

Se utilizaron 14 cultivares de soya (Tabla I), los cuales en su mayoría corresponden a materiales desarrollados durante los años 80 bajo el

maceró con N_2 líquido en un mortero. Se extrajo el ADN utilizando el método con CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide; Dellaporta *et al.*, 1983). La concentración y calidad de los ADN fue determinada mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8%, teñido con Sybr Green (Promega, USA).

PCR y electroforesis

Se utilizaron 18 cebadores microsátélites cuyas secuencias fueron descritas en el estudio de Hudcovicová and Kraic (2003). La amplificación del ADN vía PCR fue desarrollada en un volumen de 25µl conteniendo 1x de Buffer Green Go-Taq®; 1,5mmol de $MgCl_2$, 0,2mM de cada deoxinucleótidos (dATP, dTTP, dGTP,

LISTA DE CEBADORES MICROSATÉLITES UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN DE CULTIVARES DE SOYA, SECUENCIAS FORWARD Y REVERSE, NÚMERO DE ALELOS Y EL CONTENIDO DE INFORMACIÓN POLIMÓRFICA (PIC)

| Nº | Nombre | Forward | Reverse | Nº de alelos | PIC |
|----|---------|-----------------------------|------------------------------|-------------------|------|
| 1 | Sat001 | GCGGATACGACCAAAAATTGTT | GCGAACTGCGAAGATACTACCC | 2 | 0,38 |
| 2 | Sat168 | TGTGGATAAAAGAGCATTCAAAATG | GCGATCCTTGTTTATCTCAAAAAAGTGT | 3 | 0,49 |
| 3 | Satt001 | AAAGTCTTTAAAAGTGTGTCTTA | TAAAAGAAAAATGCAACAT | 10 | 0,89 |
| 4 | Satt002 | TGTGGGATAAATAGATAAAAAAT | TCATTTTGAATCGTTGAA | 8 | 0,77 |
| 5 | Satt005 | TATCCTAGAGAAGAACTAAAAAA | GTCGATTAGGCTTGAATA | 12 | 0,91 |
| 6 | Satt009 | CCAACCTGAAATTACTAGAGAAA | CTTACTAGCGTATTAACCCTT | 5 | 0,71 |
| 7 | Satt038 | GGAATCTTTTTTCTTTCTATTAAGTT | GCGCATTGAAATGGTTTTAGTCA | 3 | 0,52 |
| 8 | Satt082 | AATTCATTTAGGGAGTTGAT | CTAGCCAATGTCATATGACT | 10 | 0,89 |
| 9 | Satt173 | TGCGCCATTTATTCTTCA | AAGCGAAATCACCTCCTCT | 3 | 0,64 |
| 10 | Satt177 | CGTTTCATCCCATGCCAATA | CCCAGCATTTTTTCAACCAC | 12 | 0,91 |
| 11 | Satt242 | GCGTTGATCAGTTCGATTTTTATTGTT | GCGAGTGCCAACTAACTACTTTTATGA | 5 | 0,77 |
| 12 | Satt244 | GCGCCCATATGTTAAATTATATGGAG | GCGATGGGGATATTTTCTTTATTATCAG | 3 | 0,46 |
| 13 | Satt309 | GCGCCTTCAAATTGGCGTCTT | GCGCCTTAAATAAAACCCGAAACT | 2 | 0,48 |
| 14 | Satt373 | TCCGCGAGATAAATTCGTAAAAAT | GGCCAGATACCCAAGTTGTACTTGT | 2 | 0,19 |
| 15 | Satt534 | CTCCTCTGCGCAACAACAATA | GGGGATCTAGGCCATGAC | 6 | 0,7 |
| 16 | Satt547 | GCGCTATCCGATCCATATGTG | TGATTTGCTAGGTAAAAATCA | 5 | 0,71 |
| 17 | GMSC514 | TACCTTCTTGTGAGTCGTA | TATTGAGATGGA TATTGTAGATC | 3 | 0,56 |
| 18 | SOYPRP1 | CGTGCCAAATTACATCA | TGATGGGAACAAGTACATAA | 3 | 0,59 |
| | | | | Valores Totales | 97 |
| | | | | Valores Promedios | 5,39 |
| | | | | | 0,64 |

Resultados y Discusión

Los 18 cebadores SSR evaluados en los 14 cultivares de soya resultaron polimórficos y produjeron un total de 97 alelos, con un promedio de 5,39 alelos por locus, siendo el mínimo de 2 alelos (Satt309, Satt373 y Sat001) y el máximo de 12 alelos (Satt005 y Satt177). El contenido de información polimórfica (PIC) varió de 0,38 (Sat001) a 0,91 (Satt005 y Satt177), con promedio de 0,64 (Tabla II), valor que indica la efectividad de la información de los loci SSR, y en este caso fue relativamente alta, lo que es de esperarse en soya, ya que se ha sugerido que un valor de PIC >0,80 es común en análisis con microsatélites y proporciona una buena base para la obtención de perfiles genéticos (Rongwer *et al.*, 1995).

Cabe resalta que los valores de PIC y el número de alelos por locus obtenidos en este estudio fueron menores a los señalados por Hudcovicová y Kraic (2003), quienes uti-

lizaron los mismos 18 SSR, así como a los obtenidos en otros estudios realizados en otras regiones (Akaka *et al.*, 1992; Morgante y Oliveri, 1994; Rongwen *et al.*, 1995; Diwan y Crecan, 1997). Esta discrepancia posiblemente se deba al menor número de genotipos evaluados en el presente estudio. Una excepción la representa el trabajo realizado Hwang *et al.* (2008) quienes a pesar de haber evaluado un número considerablemente superior de marcadores SSR (377) y genotipos (87) encontraron valores menores en cuanto a PIC (0,44) y al promedio de alelos por locus (3,70).

En el estudio de las relaciones genéticas basado en el dendrograma (Figura 1), obtenido a partir del coeficiente de similitud de Dice, se diferenciaron tres grupos. El grupo I incluye los cultivares brasileños 'Tracajas', 'Celeste' y

'Sambaiba'. El grupo II se encuentra más relacionado al grupo I y esta conformado en su mayoría por cultivares de soya venezolanos, a excepción del cultivar 'CICRAS06', el cual fue desarrollado y liberado por el Centro de Investiga-

ciones en Granos y Semillas de la Universidad de Costa Rica. El grupo III es un grupo mixto conformado por cultivares brasileños, algunos FP y el cultivar 'CB-3296', siendo los cultivares con mayor coeficiente de similitud genética (CSG) 'Conquista' y 'Raimunda' los cuales a su vez están muy relacionados al cultivar 'CB-3296'. Otros materiales que se muestran muy relacionados son el 'FP92-1904' y el 'FP92-4906' cuyo CSG fue de 0,57. En general, con los 18 marcadores SSR fue posible la distinción de todos los cultivares, sin embargo es necesario conocer más acerca del pedigrí de los cultivares para explicar mejor las relaciones genéticas entre ellos.

En cuanto a la disposición en los grupos de los cultivares brasileños 'Raimunda', 'Conquista', 'Celeste' y 'Sambaiba', existe cierta correspondencia con el origen de los parentales que conforman estos cultivares, de acuerdo a la información de pedigrí señalada por Hiro-moto y Vello (1986), quienes

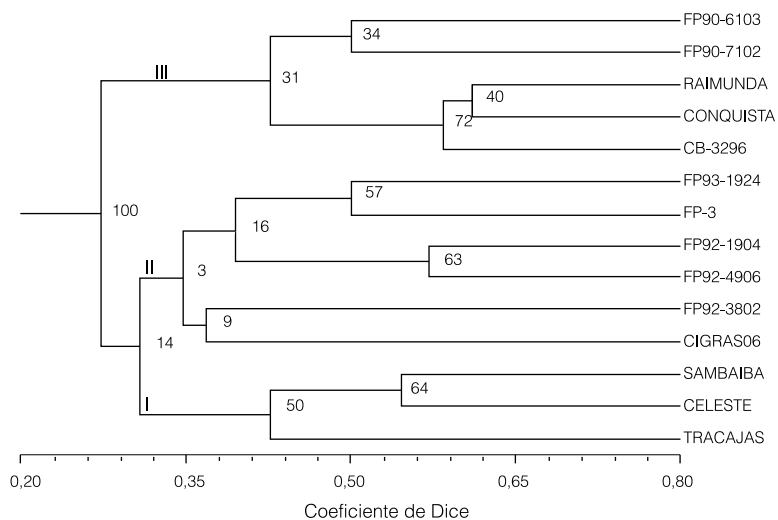


Figura 1. Dendrograma consenso construido a partir de 1000 combinaciones de remuestreo y obtenido de la evaluación de 14 genotipos de soya con 18 marcadores SSR, utilizando el coeficiente de Dice y el método UPGMA. Los números en los nodos indican el número de veces en porcentaje en que la topología de un nodo en particular se repite.

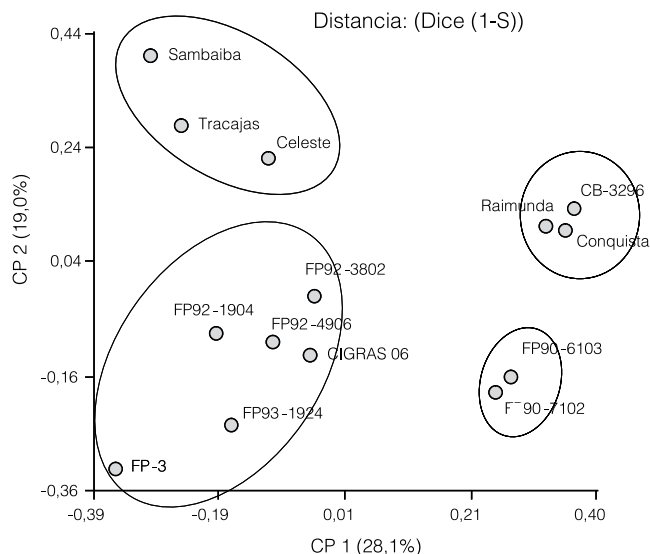


Figura 2. Representación gráfica del análisis de coordenadas principales (ACP) obtenido de la evaluación de los 14 cultivares de soya con 18 marcadores SSR.

evaluaron la base genética de los principales cultivares de soya en Brasil. Respecto a los cultivares venezolanos ubicados en el grupo II conocidos como cultivares FP, ellos comparten líneas denominadas BR83 las cuales provienen de una selección realizada en Brasil, caracterizadas por su buena adaptación al trópico y resistencia al hongo *Cercospora sojina*. También comparten en su pedigrí las líneas FP3 y FP4 (Tabla I)

La Figura 2 corresponde a la representación gráfica de las relaciones genéticas de los cultivares obtenido por ACP, el cual explicó 58% del total de la variación observada en las tres primeras coordenadas. Allí puede observarse el agrupamiento de los cultivares 'FP90-6103' (1) y 'FP90-7102' (6), ambos comparten en su pedigrí la línea parental macho (BR83-10073). Es importante resaltar que ambas líneas, siendo FP, se diferencian del resto, posiblemente por poseer en su constitución genética fuentes F81 provenientes de la Universidad de Florida (Tabla I). Al igual que en el dendrograma, la mayoría de las líneas FP se agruparon junto a la 'CIGRAS-06', lo que hace pensar puedan tener orígenes similares. El cultivar 'FP-3', como es de esperarse,

se agrupó con las mayoría de las líneas FP, debido a que éste fue uno de los primeros cultivares obtenidos y sembrados en el país y fue utilizado para la derivación de líneas para la obtención de cultivares.

Los resultados obtenidos corroboran la utilidad de los SSR en estudios de diversidad genética en soya. La información generada es útil para los programas de mejoramiento, permitiendo la planificación de cruces con combinaciones útiles de algunos cultivares considerados élites en base a su comportamiento fenotípico. No obstante, se recomienda continuar explorando mayor diversidad genética en el banco de germoplasma para poder realizar mayores progresos en mejoramiento a mediano y largo plazo.

REFERENCIAS

Akkaya MS, Bhagwat AA, Cregan PB (1992) Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics* 132: 1131-1139.

Anwar MMF, Ureshi A, Ashraf M, Khan MR, Javed A (2009) Evaluation of genetic diversity in soybean (*Glycine max*) lines using seed protein electrophoresis. *Aust. J. Crop Sci.* 3: 107-112

Bonato VAL, Calvo ES, Geraldi IO, Arias CA (2006) Genetic similarity among soybean

bean (*Glycine max* (L) Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP markers. *Genet. Mol. Biol.* 29: 692-704.

Bonato ALV, Calvo ES, Geraldi IO, Arias AA. (2006). Genetic similarity among soybean (*Glycine max* (L) Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP markers. *Genet. Mol. Biol.* 29: 692-704.

Correa RX, Abdelnoor RV, Faleiro FG, Cruz CD, Moreira MA, De Barro EG (1999) Genetic distance in soybean based on RAPD markers. *Bragantia Campinas* 58: 15-22.

Cregan PB, Jarvik T, Bush AL, Shoemaker RC, Lark KG, Kahler AL, Kaya N, VanToai TT, Lohnes DG, Chung J, Specht JE (1999) An integrated genetic linkage map of the soybean. *Crop Sci.* 39: 1464-1490.

Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA mini-preparation: version II. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 19-21.

Diwan N, Crecan PB (1997) Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. *Theor. Appl. Gen.* 95: 23-33.

FAO (2008) *Perspectivas Alimentarias*. www.fao.org/docrep/001/ai466s/ai466s00.htm

Fedeagro (2007) *Estadísticas Agrícolas*. Confederación Nacional de Asociaciones de Productores Agropecuarios. www.fedeagro.org/producción/Rubos.asp

Hiramoto DM, Vello NA (1986) The genetic base of Brazilian soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Cultivars. *Rev. Brasil. Genet.* IX: 295-306.

Hudcovicová M, Kraic J (2003) Utilisation of SSRs for characterization of the soybean (*Glycine max* (L) Merr.) genetic resources. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 39: 120-126.

Hwang TY, Nakamoto Y, Kono I, Ehoki H, Funatsuki H, Kitamura K, Ishimoto M (2008) Genetic diversity of cultivars and wild soybean including Japanese elite cultivars as revealed by length polymorphism of SSR markers. *Breed. Sci.* 55: 315-323.

InfoStat (2004) *Software Estadístico*. Vers. 1.1. InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Miroslav B, Miroslav K, Jana R, Miroslav V, Miroslav P (2002) Evaluation of genetic diversity in 19 *Glycine max* (L.) Merr. Accessions included in the Czech National Collection of Soybean Genotypes. *Czech J. Genet. Plant Breed* 38: 69-74.

Morgante M, Oliveri AM (1994) Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci. *Genome* 37: 763-769.

Page RDM (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput. Appl. Biosci.* 12: 357-358.

Pavliček A, Hrdá S, Flegr J (1999) FreeTree – Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. *Folia Biol (Phara)* 45: 97-99.

Pecina KU, Maldonado HL, Maldonado MN, Simpson J, Martínez de la VO, Gil VKC (2005) Diversidad genética en soya del Trópico húmedo de México determinada con marcadores AFLP. *Rev. Fitotec. Mex.* 28: 63-69.

Pham TBT, Nguyen TL, Bui C. (2003) Soybean genetic diversity analysis. *Omonrice 11*: 138-142.

Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analysis. *Mol. Breed.* 2: 225-238.

Priolli RHG, Mendes-Junior CT, Arantes NE, Contel EPB (2002) Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.* 25: 185-193.

Rodrigues DH, Alântara NF, Schuster I (2008) Identification of essentially derived soybean cultivars using microsatellite markers. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 8: 74-78.

Rongwen J, Akkaya MS, Bragwat AA, Lavi U, Cregan PB (1995) The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor. Appl. Genet.* 90: 43-48.

Solórzano PR, Muñoz JA, Gamboa MA (2005) *El Cultivo de la Soya en Venezuela*. Agroisla. Maracay, Venezuela. 188 pp.

Song QJ, Marek LF, Shoemaker RC, Lark KG, Concibido VC, Delannay X, Specht JE, Cregan PB (2004) A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor. Appl. Genet.* 109: 122-128.

Yamanaka N, Sato H, Yang Z, Xu DH, Catelli LL, Binneck E, Arrabal ACA, Abdelnoor RV, Nepomuceno AL (2007). Genetic Relations between Chinese, Japanese, and Brazilian soybean gene pools revealed by simple sequence repeat (SSR) markers. *Genet. Mol. Biol.* 30: 85-88.