



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN
BIOTECNOLOGÍA**

AUTOR: MÁRQUEZ CARRILLO, MIGUEL EDUARDO

**TEMA: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE 297
GENOTIPOS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)
PROVENIENTES DEL CENTRO INTERNACIONAL DE
MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO E INFERENCIA DE
SU ESTRUCTURA GENÉTICA.**

DIRECTOR: M.Sc. MARÍA FERNANDA LOAYZA VILLA

CODIRECTOR: B.Sc. LOURDES KARINA PONCE

SANGOLQUÍ, ENERO 2014

RESUMEN

Debido a sus características nutritivas, el trigo es el segundo producto agrícola de mayor consumo en el Ecuador. En la actualidad el cultivo local se ve afectado por dos enfermedades como son la roya amarilla y fusariosis de la espiga, razón por la cual instituciones como INIAP desarrollan programas de mejoramiento, para los cuales es necesario contar con información genotípica para mantener e incrementar el acervo genético de las variedades disponibles.

El objetivo de la presente investigación fue caracterizar molecularmente 297 muestras de una colección de líneas avanzadas de trigo de primavera originadas en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), utilizando inicialmente 84 marcadores microsatélites marcados con fluorescencia mediante la técnica M13-Tailing para inferir su estructura poblacional. Primero, se extrajo el ADN de las muestras, utilizando el método de Ferreira y Grattapaglia, luego se las validó utilizando PCR descrita por Morillo y Miño, posteriormente, se validó el polimorfismo de los *primers* con el fin de seleccionar los idóneos para este estudio. Finalmente, las muestras fueron amplificadas con los SSRs seleccionados mediante PCR y después se genotiparon en el analizador de ADN LI-COR 4300s.

El análisis de estructura poblacional incorporó 28 marcadores SSR y 45 SNP distribuidos en todo el genoma. El análisis estadístico se realizó utilizando métodos de asignación genética basados en estadística Bayesiana aplicados en el programa STRUCTURE vs. 2.3.4. Para determinar el número de subpoblaciones, se utilizó la técnica de Evanno, adicionalmente, se analizó los Componentes Principales con el

programa Eigensoft ver. 4.2 se. Los resultados revelaron la existencia de tres subpoblaciones y una gran diversidad alélica en la colección de líneas élite de trigo, presentando en promedio cerca de 4,46 alelos/*locus*.

Palabras claves: Caracterización molecular, genotipaje, microsatélites, estructura poblacional.

ABSTRACT

Because of its nutritive properties, wheat is the second most consumed agricultural product in Ecuador. At present the local culture is affected by two diseases such as yellow rust and scab, why institutions like INIAP develop breeding programs for which is genotypic information needed to maintain and increase the gene pool of available varieties

The objective of this research was to molecularly characterize 297 samples from a collection of advanced lines of spring wheat originating in the International Center for Maize and Wheat Improvement (CIMMYT), initially using 84 fluorescently labeled microsatellite markers by M13 -tailing technique to infer population structure . First, the sample DNA was extracted using the method and Grattapaglia Ferreira , then validated using the described PCR and Mino Morillo subsequently polymorphism *primers* validated so is selecting the appropriate for this study. Finely, the samples were amplified by PCR with the selected SSRs and then genotyped DNA Analyzer 4300S LI - COR .

The analysis of population structure incorporated 28 SSR and 45 SNP markers distributed throughout the genome. Statistical analysis was performed using genetic mapping methods based on Bayesian statistics applied in the program STRUCTURE vs. 2.3.4. To determine the number of subpopulations, Evanno method additionally Principal Component Analysis to see Eigensoft program was used 4.2. The results revealed the existence of three subpopulations and allelic diversity in a collection of elite wheat lines, presenting on average about 4.46 alleles / *locus*.

Keywords: molecular characterization, genotyping, microsatellite, population structure.